Aus der Kinderklinik
Abteilung Laboratoriumsdiagnostik
der Stoffwechsel- und Hormonkrankheiten
der Universität Tübingen
Direktor: Professor Dr. D. Gupta, F.R.C.Path.

MELATONIN-WACHSTUMSHORMON BEZIEHUNGEN IN ERWACHSENEN MÄNNLICHEN RATTEN

INAUGURAL—DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der
MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
(Klinische Medizin)
der Eberhard-Karls-Universität
Tübingen

vorgelegt von
MARCO BOMBELLI
aus Legnano/Italien

1987

Aus der Kinderklinik
Abteilung Laboratoriumsdiagnostik
der Stoffwechsel- und Hormonkrankheiten
der Universität Tübingen
Direktor: Professor Dr. D. Gupta, F.R.C.Path.

MELATONIN-WACHSTUMSHORMON BEZIEHUNGEN IN ERWACHSENEN MÄNNLICHEN RATTEN

INAUGURAL—DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der
MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
(Klinische Medizin)
der Eberhard-Karls-Universität
Tübingen

vorgelegt von
MARCO BOMBELLI
aus Legnano/Italien

1987

Dekan:	Professor Dr. J. Dichgans
1. Berichterstatter:	Professor Dr. D. Gupta
2. Berichterstatter:	Professor Dr. E. Keller

---

gedruckt 1987 bei H.-J. Köhler , Reprografischer Betrieb , Tübingen

1.	EINLEITUNG	Seite: 1
1.1	Die Zirbeldrüse	
1.1.1	Geschichtliches	1
1.1.2	Funktionelle Anatomie	2
1.1.3	Die Klassifikation der epiphysären Proteine	6
1.2	Melatonin	8
1.2.1	Biochemie der Melatoninsynthese	8
1.2.2	Regulation der Melatoninsynthese	12
1.3	Die Rolle der Epiphyse beim Tier- die Epiphyse und die Beeinflussung endokriner Organe	13
1.3.1	Epiphyse/Melatonin - Reproduktionsorgane	13
1.3.2	Epiphyse/Melatonin - Schilddrüse	17
1.3.3	Epiphyse/Melatonin - NNR	18
1.3.4	Epiphyse/Melatonin - Wachstum	18
1.4	Die Rolle von Melatonin beim Menschen	20
1.5	Die Regulation der WH-Sekretion	21
1.6	Ziel der Arbeit	24
2.	MATERIAL UND METHODEN	
2.1	Versuchstiere	25
2.2	Tierhaltung	25
2.3	Tageszeit der Experimente	25
2.4	Narkoseverfahren	25
2.5	Verwendete Substanzen	26
2.5.1	Altinsulin	26
2.5.2	Melatonin	26
2.5.3	Wachstumshormon	26
2.5.4	L-Dopa	27

2.5.5 NaCl 27

2.6 Blutgewinnung und Umgang mit den entnommenen Blutproben 27

2.7 Messverfahren 28

2.7.1 Melatoninbestimmung 28

2.7.1.1 Extraktion von Melatonin 28

2.7.1.2 RIA-Bestimmung 28

2.7.2 Wachstumshormonbestimmung 31

2.7.2.1 Jodierungsverfahren 31

2.7.2.1.1 Reagenzien 31

2.7.2.1.2 Vorbereiten der Trennsäule 31

2.7.2.1.3 Vorgehen 31

2.7.2.2 RIA-Bestimmung 32

2.8 statistische Analyse 34

3. EXPERIMENTELLE PROTOKOLLE

3.1 Gruppe I 35

3.2 Gruppe II 36

3.3 Gruppe III 37

3.4 Gruppe IV 38

4. ERGEBNISSE

4.1 Gruppe I 39

4.2 Gruppe II 42

4.3 Gruppe III 46

4.4 Gruppe IV 50

5. DISKUSSION 53

6. ZUSAMMENFASSUNG 64

7. LITERATURVERZEICHNIS 65

1 EINLEITUNG

1.1 Die Zirbeldrüse

1.1.1 Geschichtliches

Der klassische Name dieses Organs lautet " corpus pineale ". Von Hieropilus (325 v.Chr. - 280 v. Chr.) erstmals beschrieben, erhielt dieses Organ seinen Namen von Galen (ca. 130 v. Chr.), welcher beobachtet hatte, daß dieses Organ eine Kieferzapfen-ähnlichen Struktur aufwies (pinus, lat.: die Kiefer).

Der Zirbeldrüse wurden in Laufe der Geschichte verschiedene Funktionen zugewiesen; so war Galen der Auffassung, daß sie als "Stütze den vielen Hirnvenen diene" (Ariens-Kappers, 1979). Descartes (1591-1650) sah in diesem Organ den Sitz der Seele (Tannery, 1909).

Ende des 19. Jahrhunderts wurde diese Organstruktur als eine hormon-produzierende Drüse erkannt:

Heubner präsentierte den Fall eines an einem Pinealom erkrankten Jungen, welcher die Zeichen von pubertas praecox aufwies (Heubner, 1898). Marburg glaubte ebenso, die Ursache von pubertas praecox in Zusammenhang mit einer Dysfunktion der Zirbeldrüse erklären zu können (Marburg, 1930).

Nach Berblingers Auffassung ist die menschliche Zirbeldrüse eine Drüse, die in der Jugend über eine Hemmung hypothalamischer Funktion zu einer Hemmung der Keimdrüsenentwicklung führt. (Berblinger, 1920, 1932).

Hofstätter setzte Zirbeldrüsenextrakte sogar zu therapeutischen Zwecken ein (Hofstätter, 1950).

Kitay und Altschule fassten 1954 alle bis dahin veröffentlichten Artikeln zusammen (in: "the pineal gland"),

aus denen in der Hauptsache hervorgeht, daß die Zirbeldrüse (Epiphyse) eine Rolle in Zusammenhang mit der Funktion der Keimdrüsen und Pigmentierungsprozessen der Haut spielen muss (Kitay und Altschlule, 1954).

1.1.2 Funktionelle Anatomie

Die funktionelle Rolle der Epiphyse wird nach den heutigen Erkenntnissen am besten mit dem Satz " a regulator of regulators " beschrieben, ein von Reiter und Hester (Reiter und Hester, 1966) eingeführter Begriff, womit der Zirbeldrüse die Funktion einer aktiven endokrinen Drüse zugeordnet wird, welche die hypothalamische Kontrolle neurophysiologischer Rhythmen und zahlreicher neuroendokriner Funktionen moduliert. Photoneuroendokrine Mechanismen entstehen aus der funktionellen Einheit zwischen Photoreceptoren und neuroendokrine Hirnregionen. Mittels dieser Mechanismen können autonome Organfunktionen durch äussere Lichtenflüsse reguliert werden. Die Epiphyse von Vertebraten spielt eine wichtige Rolle im neuroendokrinen System als Umschaltstation von neuralen Impulsen in humoralen Antworten.

Die neuroanatomische Grundlage für diese Funktion stellt die neurale Verbindung zwischen der Retina und der Epiphyse dar: die Epiphyse zahlreicher Submammalier reagiert aufgrund ihres strukturellen Aufbaus (Collin, 1971, Oksche, 1971) und ihrer Lokalisation (Kappers, 1976) direkt auf das durch das Schädeldach einfallende Licht (Collin und Oksche, 1971). Bei Säugetieren ist die funktionelle Einheit der Epiphyse mit dem Licht-Dunkelheitscyclus durch eine Retino-Epiphysäre Verbindung gegeben.

Ueber eine neurale Verbindung werden Lichtreize, die von der Retina aufgenommen werden, über das chiasma opticum zu dem nucleus suprachiasmaticus geleitet (Moore, 1978, Korf und Møller, 1984). Von dort aus gelangt die Information zu Neuronen des lateralen Hypothalamus, um Verbindung mit den intermediolateralen Zellen des oberen Halsmarkes aufzunehmen. (Ariens-Kappers et al, 1979, Moore, 1979).

Neuere Untersuchungen bei der Ratte haben zwei efferente Projektionen aus dem nucleus suprachiasmaticus gezeigt (Stephan et al, 1982, Berk und Finkelstein, 1982):
Eine Fasergruppe verläuft durch den tuberalen Hypothalamus um den nucleus ventromedialis herum in Richtung tractus intermediolateralis. Eine zweite Fasergruppe nähert sich dem nucleus paraventricularis des Hypothalamus, aus welchem monosynaptische efferente Verbindungen zu den intermediolateralen Zellen des oberen Halsmarkes nachgewiesen worden sind (Swanson und Sawchenko, 1983).
Efferente präganglionäre sympathische Fasern gelangen von hier aus zu dem ganglion cervicale superius (Rando et al, 1981, Bowens und Zigmond, 1982). Postganglionäre Fasern bilden die Hauptinnervation der Epihyse (Bowens und Zigmond, 1982).

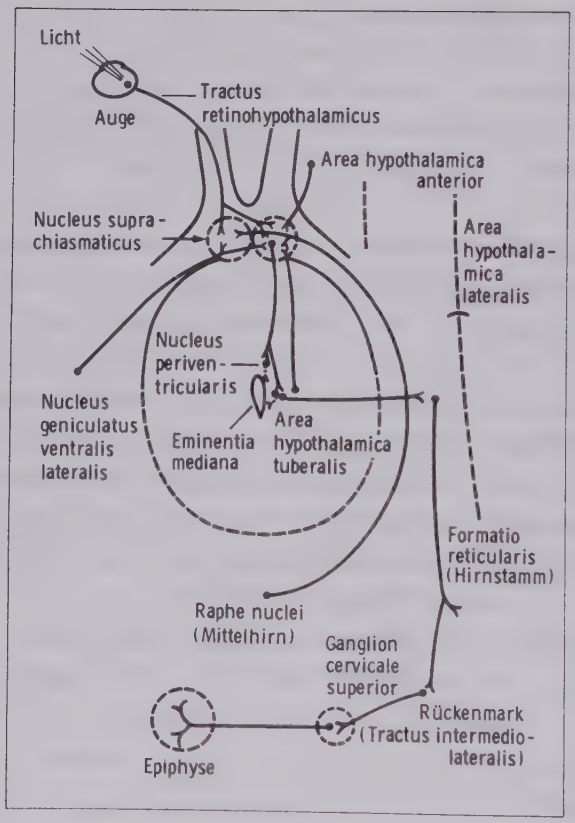


Abb. 1: Neurale Verbindung zwischen Retina und Epiphyse. Schematische Darstellung aus tierexperimentell gewonnenen Erkenntnisse.
Nach Moore, in: Funktionelle Morphologie und Pathophysiologie der Zirbeldrüse, aus: Gupta: Endokrinologie der Kindheit und Adoleszenz, Thieme Verlag, Stuttgart, S. 57

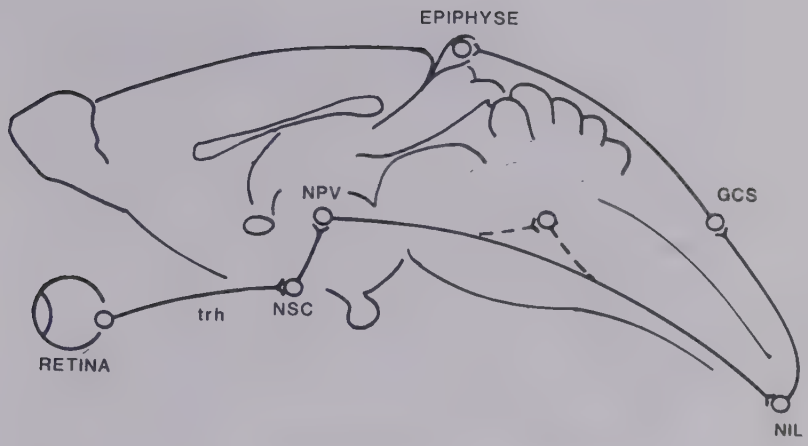


Abb. 2 Modell der neuralen Retino-epiphysäre Verbindung beim Goldhamster.
Lichtimpulse, die auf der Retina aufgenommen werden, werden über den retinohypothalamischen Trakt zu dem nucleus suprachiasmaticus (NSC) geleitet. Ueber intrathalamische Verbindungen (nucleus paraventricularis - NPV -, nucleus intermediolateralis) gelangt die Information auf Zellen des intermediolateralen Stranges (NIL) . Von hier ausgehend führen präganglionäre sympathische Neuronen zum ganglion cervicale superius (GCS). Postganglion. Fasern innervieren die Epiphyse.
aus: Bittman E.L.: melatonin and photoperiodic time measurement: Evidence from rodents and ruminants - S. 159 in: the pineal gland, edited by R.J. Reiter, Raven Press N.Y. 1986.

Sendet demnach die Epiphyse Impulse aus, die im Laufe der neuralen Verbindung in sympathischen Signalen übersetzt werden, so wird der β-adrenerge Receptor an der Pinealocytenmembran erregt bzw. gehemmt.
Der nucleus suprachiasmaticus gilt als der endogene Erzeuger eines circadianen Rhythmus , welcher über das sympathische System die Funktion der Epiphyse beeinflusst (Moore und Klein, 1974, Rusak und Zucker, 1975, Moore, 1983).
Licht und Dunkelheit stellen Einflussgrössen dar, die den genannten übergeschalteten Rhythmus synchronisieren (Wurtman et al, 1968, Nagle et al, 1972). Mehrere Untersuchungen haben gezeigt, daß die circadiane Aktivität von NAT, einem Hauptenzym in der Melatoninsynthese (siehe unter Biochemie der Melatoninsynthese), nach Ablatio des nucleus suprachiasmaticus völlig erlischt (Klein et al, 1971, Klein, 1973), wohingegen eine Ausschaltung photischer Impulse nur eine Verschiebung des circadianen Rhythmus bewirkt (Moore, 1974, Moore und Klein, 1974, Moore und Traynor, 1976).
Norepinephrin (NE) stellt die wichtigste Transmittersubstanz zwischen den sympathischen Fasern und den β-adrenergen Receptoren auf der Pinealocytenmembran dar (Wurtman et al, 1971).

1.1.3 Die Klassifikation der epiphysären Proteinen

Neben dem Hauptprodukt Melatonin (siehe unter Kapitel 1.2) und anderen Indolkörpern (Serotonin, 5-Methoxytryptophol) (Hooper et al, 1979) enthält die Epiphyse eine Reihe an Polypeptiden und Proteinen.
All jene Proteine oder Peptide, die in der Epiphyse identifiziert wurden oder teilweise charakterisiert werden konnten,

wurden in verschiedenen Bioassays getestet.
Solche, die darin eine Aktivität zeigten, wurden als aktive epiphysäre Faktoren bezeichnet (Vaughan, 1984).
Nicht alle Substanzen können aber als "Substanzen der Epiphyse" bezeichnet werden, da diese in der Epiphyse zwar vorkommen, von ihr aber nicht synthetisiert werden (Pévet, 1983, 1985a,b). Es wurde zur Einteilung dieser zahlreichen Substanzen deshalb eine Klassifikation eingeführt (Pévet, 1985c). Nach dieser stellen Peptide oder Proteine der Klasse I Neurotransmitter oder Neuromediatoren dar - die wichtigsten bilden Vasopressin und Oxytocin - , die in die Epiphyse über neuralen Fasern gelangen (Ariens-Kappers, 1983, Korf und Møller, 1985).
Proteine/Peptide der Klasse II stellen circulierende Hormone dar, die sich in der Epiphyse anreichern und die Biosynthese der Indolkörper Serotonin und Melatonin beeinflussen (Cardinali, 1981, 1983). Möglicherweise fungieren die circulierenden Hormone als Information für die Epiphyse über den Aktivitätszustand des endokrinen Systems (Pévet, 1985a).
Als echte epiphysäre Faktoren können nur die Substanzen der Klasse III bezeichnet werden, Peptide oder Proteine, die in der Epiphyse in spezifischen Zellen synthethisiert werden. Meinungsverschiedenheiten bestehen darüber, ob Arginin-Vasotocin (AVT) unter dieser Klasse von Proteinen gezählt werden kann (Pévet, 1983, Prechel et al, 1983, 1984).
Wurde die Synthese und der Sekretionsmuster dieser Substanzen mehrfach charakterisiert (Pévet, 1981a,b, 1982, 1983, Kurasek, 1983), so bestehen noch Fragen über derer Funktion. Möglicherweise dienen sie als Trägerproteine für

Melatonin und Serotonin, oder aber stellen sie selbst spezifische Aktive epiphysäre Substanzen dar (Pévet, 1985c).

1.2 Melatonin

Melatonin ist das Hauptprodukt der Epiphyse (Reiter et al, 1977). Lerner (Lerner et al, 1959) isolierte die Substanz N-Acetyl-Methoxy-Tryptamin aus der Epiphyse und gab ihr den Namen Melatonin.

Melatonin wird in geringen Mengen auch in anderen Organen produziert . Nachgewiesen wurde es in der Retina von Hamstern (Pévet et al, 1980), in Hypothalamus und Gastrointestinaltrakt der Ratte (Ralph, 1981) sowie in den Blutzellen und im peripheren Nervensystem beim Menschen (Ralph, 1981), doch stellt die Epiphyse das Hauptproduktionsorgan dar (Quay, 1974).

Melatonin, das von der Epiphyse unmittelbar in das circulierende Blut sezerniert wird, (Rollag et al, 1978), gelangt in das ZNS über eine Aufnahme durch den plexus chorioideus und Anreicherung in die cerebrospinale Flüssigkeit, wie Untersuchungen mit ^{3}H-markiertem Melatonin ergaben (Mess und Trentini, 1974).

1.2.1 Biochemie der Melatoninsynthese

Die Synthese von Melatonin geht von der Aminosäure L-Tryptophan aus, die zunächst aus dem circulierenden Blut aufgenommen wird.

Nach Umwandlung von L-Tryptophan zu Hydroxytryptophan mittels 5-HTP-Decarboxylase (Deguchi, 1977) wird dieses zu Serotonin decarboxyliert.

Bei der Ratte ist die Serotoninkonzentration in der Epiphyse höher als in anderen Gehirnpartien (Quay,1963,Saavedra et al, 1973),wobei die circadianen Schwankungen mit Konzentrationsgipfeln zur Mittagszeit und Konzentrationstiefpunkte zur Nacht (Quay, 1963) auf eine durch Licht induzierbare Aktivitätserhöhung von 5-HTP-Decarboxylase zurückzuführen sind (Snyder et al, 1964).

Serotonin wird dann über zwei Enzyme - NAT (N-Acetyltransferase) und HIOMT (Hydroxy-Indol-O-Methyltransferase) zum Endprodukt Melatonin umgewandelt.

Der Abbau erfolgt in der Leber durch Hydroxylierung (in Position 6) und nachfolgende Konjugierung mit Sulfat oder Glucuronat.

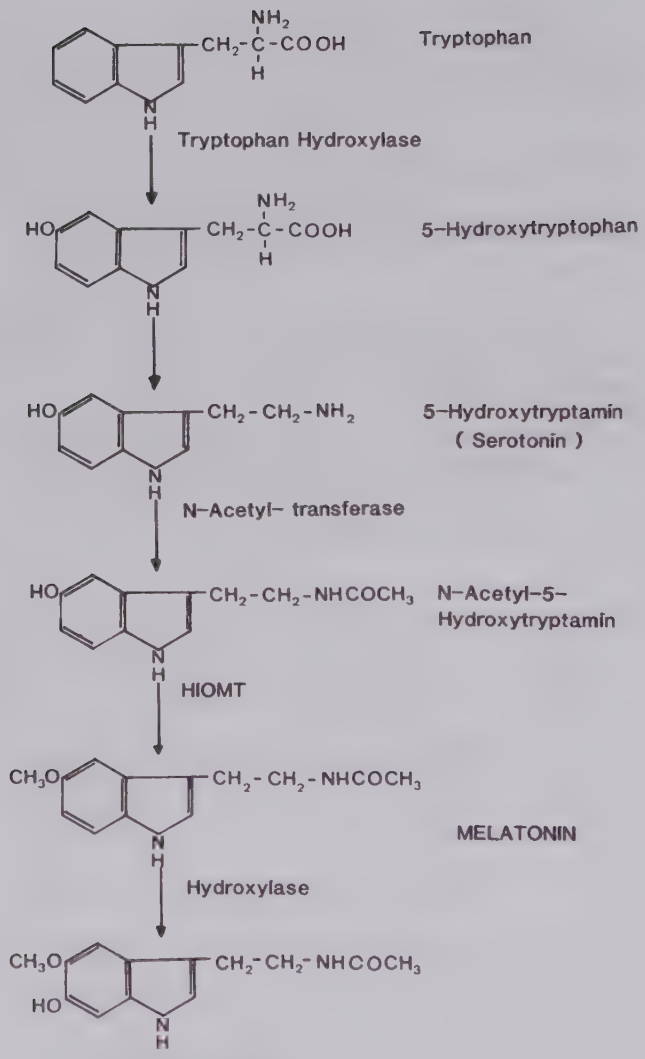


Abb. 3 : Biosynthese von Melatonin

Abb. 3 : Biosynthese von Melatonin

Die Aminosäure Tryptophan wird mittels Tryptophan-Hydroxylase in Position 5 zu 5-Hydroxytryptophan hydroxyliert, welches mittels einer L-aromatischen Aminosäuredecarboxylase zu Serotonin decarboxyliert wird. Das Enzym NAT (N-Acetyltransferase) transferiert eine Acetylgruppe aus Acetyl-CoA auf die Aminogruppe von Serotonin . Es entsteht N-Acetyl-5-Hydroxytryptamin.
Durch Methylierung mittels HIOMT entsteht MELATONIN.
Melatonin wird mittels einer Hydroxylase zu 6-Hydroxymelatonin hydroxyliert und in der Leber zu Glucuronsäure konjugiert.
Modifiziert aus: M. Ebadi: Regulation of the synthesis of melatonin and its significance to Neuroendocrinology. In: the pineal gland S. 3; edited by R.J. Reiter, Raven Press N.Y. - 1984

1.2.2 Regulation der Melatoninsynthese

Die deutliche Rhythmik von NAT - nachts noch, tagsüber tief - (Reiter, 1981a) unterliegt in erster Linie dem endogenen circadianen sympathischen Rhythmus (Klein und Weller, 1970, Brownstein und Axelrod, 1974) und ist in ihrer Entstehung unabhängig von dem Licht-Dunkelheitscyclus (Deguchi, 1978).

Ontogenetisch begegnen wir diesen Rhythmus schon sehr früh nach Geburt (Deguchi, 1978, Tamarkin, 1980), zu einem Zeitpunkt, welches mit der Entwicklung der adrenergen Innervation der Epiphyse zusammenfällt.

Sympathische Nervenimpulse induzieren die Ausschüttung von Norepinephrin (NE), welches den β-Receptor an der Pinealocytenmembran erregt. Die darauffolgende Aktivierung der membrangebundenen Adenylatcyclase setzt über die Bildung von c AMP die Synthese von NAT in Gang (Axelrod, 1974, Oleshansky und Neff, 1978, Zatz, 1981).
Im Vergleich zu NAT ändert sich die Aktivität von HIOMT während 24 Stunden viel weniger; die Aktivität von HIOMT unterliegt neben der neuronalen Kontrolle - Dunkelheit stimuliert HIOMT (Quay, 1974) - einer Regulierung

durch circulierende Gonadensteroide (Cardinali , 1981).

1.3 Die Rolle der Epiphyse beim Tier - die Epiphyse und die Beeinflussung endokriner Organe

1.3.1 Epiphyse/Melatonin - Reproduktionsorgane

Schon seit mehreren Jahren weiss man anhand von tierexperimentellen Untersuchungen, daß die Aktivierung der Epiphyse bzw. exogene Verabreichung von Melatonin zu progonadotropen und antigonadotropen Phänomenen führt (Trentini et al, 1979, Reiter, 1980a, Hoffmann, 1981, Reiter, 1982, Bittmann und Karsch, 1984).
Die antigonadotrope Wirkung von exogenem Melatonin ist von der Tageszeit abhängig, zu der die Substanz verabreicht wird. So zeigen Untersuchungen von Lang (Lang, 1983 , 1984a, 1984b) an jungen Ratten (20-45 Tage alt), daß Melatonin eine dosisabhängige Involution der Testes und der vesiculae seminales bewirkt, und daß diese antigonadotropen Effekte besonders wirksam sind, wenn Melatonin in der späten Photophase oder Scotophase (d.h. ca. 9 h nach Lichteinfall bzw. ca. 9 h nach Einbruch der Dunkelheit) verabreicht wird (Lang, 1984b).
Heute wird Melatonin zunehmend von zahlreichen Autoren als die hormonelle Substanz epiphysären Ursprungs angesehen, welche das endocrino-reproduktive System reguliert (Goldman, 1983). Insbesondere fällt der Epiphyse bzw. dem Melatonin die Rolle der Kontrolle über die pubertäre Entwicklung bei Hamstern (Zucker et al, 1980, Hoffmann, 1981, Carter und Goldman, 1983) zu. Auch bei anderen Tieren scheint dem Melatonin eine Kontrolle in der

sexuellen Entwicklung zuzukommen. So berichtet Rivest (Rivest et al, 1985), daß bei der weiblichen Ratte am späten Nachmittag verabreichtes Melatonin die Oeffnung der Vagina bzw. das Einsetzen der östrogenen Cyclen erheblich verzögert.
Gilmore und Kennaway (Gilmore und Kennaway, 1984) zeigten am Lamm, daß s.c. verabreichtes Melatonin eine erhebliche Verzögerung der Pubertät bewirkt.

Noch keine eindeutige Erkenntnisse liegen darüber vor, über welche Mechanismen Melatonin seine Wirkung entfaltet. Ausser wenige Berichten, welche die Möglichkeit einer peripheren Wirkung offen lassen (Kinson und Liu, 1973, Trentini et al, 1976), zeigt sich die Mehrzahl der Autoren darüber einig, daß die entscheidende Wirkung von Melatonin auf zentraler Ebene gesucht werden muss (Trentini et al, 1979).
Zentrale Stellung spielt die Frage, ob Melatonin das neuroendocrine System direkt beeinflusst oder ob vielmehr seine Wirkung als Konversion von humoralen Reizen in neurogene Signale verstanden werden muss.
Der nucleus suprachiasmaticus gilt als Hauptbestandteil des Mechanismus, das endogene Rhythmen reguliert (Moore und Klein, 1974). Seine Aktivität scheint sehr eng mit dem Licht-Dunkelheit-Rhythmus zu korrelieren, wobei diese während der Dunkelheit ansteigt (Pardey-Borrero et al, 1985), in einer Phase, zu der die Produktion von Melatonin ebenfalls angeregt ist.
Der nucleus suprachiasmaticus scheint auch den östrogenen Cyclus, Ovulation, Gehalt an hypothalamischem LHRH und

die periodische Sekretion von LH regulieren zu können (Raisman und Brown-Grant, 1977, Samson und Mc Cann, 1979, Kawakami et al, 1980).
Die Zerstörung der serotoninergen Innervation des nucleus suprachiasmaticus bewirkt einen CEA-Syndrom (constant anovulatory state), das einem Zustand gleichkommt, das bei Ratten beobachtet wird, die konstantem Licht ausgesetzt werden (Ruszas et al, 1981, 1982).
Die Ergebnisse aus Experimenten, nach denen Melatonin die Aktivität von Serotonin im Hypothalamus und Mittelhirn beeinflusst (Walker, 1982, Cassone et al, 1983), und die episodische Sekretion von LH funktionell eng mit den circadianen Konzentrationsänderungen von hypothalamischem Serotonin korreliert (Walker, 1983a), können nach Trentini (Trentini et al, 1986) als Hinweise gedeutet werden, daß Melatonin die Reproduktion und den Rhythmus gonadotroper Hormone unter Beteiligung des nucleus suprachiasmaticus und hypothalamischen Serotonin regulieren könnte.

Erste Hinweise, Melatonin hemme die Sekretion von LH und FSH auf hypothalamischer Ebene, stammen aus den 70er Jahren (Fraschini et al, 1971, Mess et al, 1971). Cardinali und Vacas (Cardinali und Vacas, 1984) befürworten ebenso eine Wirkung von Melatonin auf hypothalamischer Ebene; dies geht daraus hervor, daß in einem Experiment in dem Portalkreislauf von erwachsenen Ratten verabreichtes Melatonin keine Aenderung der LH-Sekretion bewirkte und Melatonin den Sekretionsstimulus

von LHRH nicht aufzuheben vermochte (Cardinali und Vacas, 1984).
Im Gegensatz zu den erwachsenen Ratten bewirkt bei jungen Ratten der Zusatz von Melatonin zu hypophysären Zellkulturen eine Sekretionshemmung von LH auf die Gabe von LHRH (Martin und Sattler, 1979).
Der Effektverlust von Melatonin auf die Sekretion von adenohypophysären Hormonen mit zunehmendem Alter scheint ein altersgebundener Prozess darzustellen. Pubertät kann tatsächlich u.a. als eine Sensivitätsminderung der hypothalamisch-hypophysären Achse auf den negativen Einfluss von Hormonen gedeutet werden (Reiter, 1981b).
Möglicherweise leitet eine Minderung der Ansprechbarkeit der Hypothalamisch-Hypophysären Achse gegenüber Melatonin die Pubertät ein. Bei der Ratte nimmt die periphere und epiphysäre Melatoninkonzentration entsprechend dem Alter kontinuierlich ab (Pang et al, 1984).
Dies könnte zusätzlich als Hinweis gedeutet werden, daß dem Melatonin nur bis zu einem bestimmten Zeitabschnitt - bis zum Eintritt in die Pubertät - eine funktionelle Bedeutung auf die Reproduktionsorgane zukommt.

Neuere Ergebnisse scheinen auf eine Modulation der Epiphyse auf den positiven feed-back Mechanismus zu deuten, den Oestrogene auf die LH-Sekretion ausüben (Faigon et al, 1982).
Exogen verabreichte Oestrogene vermögen die LH-Sekretion bei der Ratte nicht vor dem 20.-22. Lebenstag zu induzieren. Dies beruht nach Ojeda (Ojeda et al, 1980) auf das Fehlen von bis dahin noch nicht entwickelten cerebralen Strukturen, die diesen feed-back Mechani

mus ermöglichen.
Diese scheinen erst ca. zwei Wochen vor der ersten Ovulation endgültig entwickelt zu sein (Ojeda et al, 1980).
Eine Epiphysektomie bewirkt einen früheren positiven feed-back von Oestrogenen auf die LH-Sekretion mit einer gegenüber nicht epiphysektomierten Ratten zeitlichen Vorverlagerung der Pubertät (Faigon et al, 1982).
Auch dieser Befund kann dahin gedeutet werden, daß Melatonin das Einsetzen der Pubertät regulieren könnte.

1.3.2 Epiphyse/Melatonin-Schilddrüse

Studien über den Einfluß der Epiphyse auf die Schilddrüse haben ergeben, daß die epiphysären Hormone die Schilddrüsenfunktion beeinflüssen:
So sinkt die thyreoidale J^{131}-Aufnahme nach i.p. Gabe von Melatonin erheblich (Reiter et al, 1965).
Auf der anderen Seite führt eine Epiphysektomie zu einer Schilddrüsenhypertrophie (De Fonzo und Roth, 1972), infolge eines erhöhten plasmatischen TSH-Spiegels (Relkin, 1972b).
Die hemmende Wirkung von Melatonin auf die TSH-Sekretion wird nach Relkin durch eine gleichzeitige Gabe von TRH (Thyreotorpin-releasing factor) aufgehoben (Relkin, 1978).
Dies läßt darauf schliessen, daß Melatonin die Schilddrüse über eine hypothalamische Sekretionshemmung von TRH beeinflüssen könnte (Relkin, 1978).

1.3.3 Epiphyse-Nebennierenrinde (NNR)

Die Aktivierung der Epiphyse verursacht bei Ratten (Hester, 1966) und Hamstern (Reiter und Hester, 1966b) einen Gewichtsverlust der Nebenniere, was in beiden Fällen durch eine Epiphysektomie rückgängig gemacht werden kann.
Auch Fraschini (Fraschini et al, 1968) und Vaughan (Vaughan et al, 1972) beschrieben eine Zuhname der Nebenniere nach Epiphysektomie. Jouan zeigte, daß nach einer Epiphysektomie die Sekretion von ACTH deutlich zunimmt (Jouan, 1963). Auch auf dieser Achse ergeben sich Hinweise dafür, daß die anti-adrenale Wirkung der Epiphyse auf eine Produktions- oder Sekretionshemmung hypothalamischer Substanzen (ACTH) basiert (Dickson und Hasty, 1972).

1.3.4 Epiphyse/Melatonin-Wachstum

Es sind schon mehr als 40 Jahre vergangen, seitdem Autoren beschrieben haben, daß Dunkelheit oder Blendung das Wachstum der Ratte hemmt (Luce-Clausen und Brown, 1939). 1959 berichtet Malm über eine Zunahme des Körpergewichtes bei Ratten,die epiphysektomiert worden waren (Malm et al, 1959).
Es konnte daraufhin gezeigt werden,daß Anosmie die gleiche wachstumshormon-hemmende Effekte wie Blendung bewirkte (Giammanco et al, 1968).

Von beiden Verfahren berichtet Wurtman, daß sie die Epiphyse stimulieren (Wurtman, 1967).
Mit Hilfe radioimmunologischer Verfahren konnten Relkin (Relkin, 1972b) bzw. Reiter (Reiter et al, 1975) bei

blinden und/oder anosmischen Ratten bzw. Hamstern (Reiter et al, 1975) zeigen, daß die periphere Wachstumshormonkonzentration niedriger als bei gesunden Tieren ist. Dies konnte auch für die hypophysäre Konzentration von WH nachgewiesen werden (Sorrentino et al, 1971a,b). Wurden die Tiere unter sonst gleichen Bedingungen epiphysektomiert, so konnte diese Beobachtung nicht gemacht werden (Hester, 1966, Sorrentino et al, 1971b, Relkin, 1972b).

Bei circadian gemessenem Melatonin zeigt die Höhe des nächtlichen Melatoninanstieges eine signifikant negative Korrelation zur Körpergröße ($r=0.45$, $p < 0.0001$); Beck und andere (Beck-Friis et al, 1984) beobachteten dieses Phänomen sowohl bei gesunden Probanden im Alter zwischen 23 und 63 Jahren, als auch bei Patienten mit solchen psychischen Erkrankungen (endogene Depression, Manie), die gegenüber der Norm veränderte Melatoninwerte aufweisen.
Smythe und Lazarus zeigten, daß Melatonin beim Menschen den insulin-induzierten Anstieg des Wachstumshormon zu hemmen vermag (Smythe und Lazarus, 1974a).
Auch der 5-HTP-induzierte Anstieg des WH konnte durch vorherige Gabe von Melatonin blockiert werden (Smythe und Lazarus, 1974b). Norlund und Lerner beobachteten ebenso, daß bei Menschen oral verabreichtes Melatonin die Antwort von WH auf die Gabe von L-Dopa (oral) oder Arginin (i.v.) unterdrückt (Norlund und Lerner, 1977).
Smythe und andere (Smythe et al, 1975) zeigten, daß Melatonin den bei einer Na-Pentobarbital-Narkose beobachtete WH-Anstieg hemmt, ja sogar die WH-Serumkonzentration drastisch senkt.

Starr berichtet, daß langzeitige Melatoningaben die bei an Sarkomen leidenden Patienten erhöte WH-Serumkonzentration senkt (Starr, 1970).
Gupta beschrieb eine umgekehrte Beziehung zwischen Wachstumshormon und Melatonin bei Kindern, die Insulin bzw. Arginin erhalten hatten:
Der Anstieg des WH ging mit einem Abfallen der Melatonin-Serumkonzentration einher (Gupta et al, 1983).

1.4 Die Rolle von Melatonin beim Menschen

Noch ungeklärt ist die so wichtige Frage, ob dem Melatonin beim Menschen eine Bedeutung zukommt.
Bei präpubertierenden Kindern wurde eine circadiane Rhythmik von Melatonin beobachtet (Birau et al, 1981), die während der gesamten Pubertät fortbesteht (Fevre et al, 1978).
Mehrere Untersuchungen weisen auf einen Zusammenhang zwischen der peripheren Melatoninkonzentration und dem Pubertätsverlauf beim Menschen hin (Gupta, 1986).
Gupta konnte zeigen, daß der peak des naechtlichen Melatoninanstieges im Laufe der Pubertätsstadien I und II abnimmt (Gupta et al, 1983), was von Waldhauser (Waldhauser et al, 1984) bestätigt werden konnte.
Die meisten Hinweise auf eine Beziehung zwischen Gonadenreifung und Melatonin stammen aus tierexperimentellen Untersuchungen, doch gibt es gute Gründe, eine Beziehung zwischen der Epiphyse, ihrem Hauptprodukt Melatonin und der Pubertät beim Menschen zu vermuten.

1.5 Die Regulation der WH-Sekretion

Als klassische zentralnervöse Neurotransmitter wurde die Mitbeteiligung von Dopamin (DA),Norepinephrin (NE), Epinephrin (E) und Serotonin in der Regulation der WH-Sekretion mehrfach untersucht. Die Ergebnisse zahlreicher Experimente ,die von lokaler und systemischer Verabreichung von Monoaminen, über die Gabe derer Vorläufer,Synthesehemmer oder Receptorenblocker, bis zur Anwendung chirurgischer oder chemischer Zerstörung bestimmter Hirnregionen reichten, sind in ihrer Aussage nicht einheitlich.Vielmehr scheint die Wirkung der Monoamine bezüglich der WH-Sekretion von der untersuchten Tierspezies abhängig zu sein.
Beim Menschen und Primaten stimulieren die Monoaminen die Sekretion von Wachstumshormon (Martin, 1980).
Die Abhängigkeit von der Tierspezies trifft insbesondere für das dopaminerge System zu. Dopaminerge Stimulantien wie das central agierende Apomorphin (Lal et al, 1973, Brown et al, 1974) und zahlreiche andere Substanzen (Camanni et al, 1975, Thorner et al, 1978, Delitala et al, 1979) wirken sich beim Menschen fördernd auf die WH-Sekretion aus.Auf der anderen Seite unterdrückt beim Pavian intrahypothalamisch verabreichtes Dopamin die WH-Sekretion (Lovinger et al, 1976). Möglicherweise dadurch, daß Dopamin die Somatostatinsekretion stimuliert (Wakabayashi et al, 1977,Negro-Vilar, 1978, Chihara et al, 1979a).

Beim Menschen kommen dem L-Dopa stimulierende Eigenschaften bei der WH-Sekretion zu (Boyd et al,1970, Eddy et al, 1971, Kansal et al, 1971, Lal et al, 1973, Woolf et al, 1979), so wie diese Eigenschaft auch für andere Tierarten nachgewie-

sen werden konnte (Brown et al, 1973, Lovinger et al, 1974). Ergebnisse bei der Ratte, wonach L-Dopa die WH-Sekretion hemmen soll (Kato et al, 1973, Kokka u. George 1974), sind mit gesunder Skepsis zu interpretieren, zumal die Experimente unter einer Urethrane-Anästhesie vorgenommen wurden, und unter dieser Narkoseform sehr niedrige und stabile WH-Werte beobachtet wurden, die selbst nach i.v. Gabe von GRF-ähnlichen Peptiden nicht anstiegen (Kato et al, 1973); Von dieser Anästhesieform ist berichtet worden, daß sie die Somatostatinsekretion stimulieren könnte (Chihara et al, 1979b).

Eine grosse Anzahl Experimente mit pharmakologischen Stimuli oder blockierenden Substanzen weist auf eine Beteiligung des α- und β-adrenergen Systems in der hypothalamischen Kontrolle der WH-Sekretion hin (Lal et al, 1975, Chambers und Brown, 1976, Durand et al, 1977, Lovinger et al, 1976, Ruch et al, 1977, Eden et al, 1979), wobei dem centralen α-adrenergen System eine stimulierende Rolle - wie an Primaten untersucht (Lovinger et al, 1976, Lancranjan et al, 1978, Martin, 1980) - zukommt.
Das β-adrenerge System übt dagegen eine hemmende Wirkung (Delitala, 1982) möglicherweise darüber aus, daß β-adrenerge Stimuli die Somatostatinsekretion stimulieren (Chihara, 1981).

In-vitro Studien haben ergeben, daß die grosse Anzahl von Catecholaminen und biogenen Aminen, die im Hypothalamus und in der eminentia mediana nachgewiesen worden sind (Brownstein et al, 1976a, 1976b, Müller et al, 1977, Weiner und Ganong, 1978) nur in diesen Bereichen agieren und nicht auf die Hypophyse wirken (Birge et al, 1979).

Bei der Ratte zeigten Kakucska und Mahara, daß manche Catecholamine über die Freisetzung von GRF (GH-releasing factor) wirken können (Kakucska und Mahara, 1983).

Steht der Hypothalamus somit unter dem Einfluß mehrerer unspezifischer Faktoren wie circulierende Catecholamine oder neurale Afferenzen aus Hippocampus, limbischen System und formatio reticularis (Vanderschueren-Lodeweyckx, 1981), so sezerniert es aus dem ventromedialen Bereich zwei hypophysiotrope Hormone, die die WH-Sekretion aus dem Hypophysenvorderlappen (HVL) stimulieren (Martin, 1972, 1973, 1974) : GRF (positiv) und Somatostatin (negativ).

Die endogene WH-Sekretion erfolgt bei Tieren und Menschen nach einem bestimmten Rhythmus in Form von Sekretionspeaks (Martin, 1979). Diese werden durch die Freisetzung von GRF aus dem nucleus ventromedialis des Hypothalamus - wie an der Ratte gezeigt (Martin et al, 1974) - erzeugt. Von GRF ist gesichert worden, daß es ein spezifischer Sekretionsstimulus auf dem somatotropen Zellen des HVL darstellt (Wehrenberg et al, 1982, Guillemin et al, 1982, Rosenthal et al, 1983) und daß es rasch nach deren Freisetzung wirkt (Wehrenberg et al, 1982).
Als zweite hypothalamische hypophysiotrope Substanz kennen wir Somatostatin, das die hypophysäre basale und stimulierte WH-Sekretion in vitro (Vale et al, 1973, Szabo und Frohmann, 1975, Vale et al, 1975) und in vivo (Brazeau et al, 1974, Parker et al, 1974, Hoffken und Lucke, 1975) hemmt.

1.6 Ziel der Arbeit

Das Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, die Wechselbeziehungen zwischen Wachstumshormon und Melatonin unter standardisierten Bedingungen zu untersuchen.
Dazu wurde das Verhalten von Wachstumshormon und Melatonin nach Gabe verschiedener WH-stimulierenden Substanzen untersucht.

2 MATERIAL UND METHODEN

2.1 Versuchstiere

Für alle Versuchsanordnungen wurden erwachsene männliche Ratten vom Typ Wistar,bei Blutentnahme 75 Tage alt,mit einem Durchschnittsgewicht von 300 g verwendet.
Bezogen wurden die Tiere von der Rattenzuchtanstalt Ivanovas in Kissleg im Allgäu.

2.2 Tierhaltung

Zur Gewöhnung an die neuen Lichtverhältnisse wurden die Tiere vor Beginn jeglicher Behandlung in Käfigen aus Metallgitter aufbewahrt (jeweils vier Ratten belegten einen Käfig).Diese befanden sich in einem 20° warmen Tierstall bei regelmäßigem Lichtrhythmus (Lichtphase von 6°° h bis 18°° h).Die Tiere erhielten Trockenfutter und Wasser ad libitum.

2.3 Tageszeit der Experimente

Die Experimente fanden zwischen 15^{30} h und 17^{00} h statt.
Die Zeit wurde konstant gehalten,um den Einfluß der circadianen Hormonspiegelschwankungen weitgehend zu vermeiden.

2.4 Narkoseverfahren

Die Narkose wurde mittels Na-Pentobarbital (Nembutal^{R}) durchgeführt.Das Narkotikum wurde intraperitoneal (i.p.) gespritzt in einer Dosierung von 0.25 ml-0.35 ml
(1 ml Lösung entspricht 60 mg Wirksubstanz).

Diese Menge entspricht bei einem Durchschnittsgewicht der Ratten von 300g einer Pentobarbital-Dosis von 45-60 mg/Kg Körpergewicht.
Diejenige Ratten, für die die Narkose bis zu zwei Stunden wirksam sein mußte, erhielten eine Stunde nach eingeleiteter Narkose eine weitere Gabe Nembutal^{R} (0.15 ml).
Bei allen Ratten zeigte die Narkose nach 30 min. hinsichtlich Sedation, Analgesie und respiratorisches Verhalten optimale Ergebnisse, bis zu deren Tod durch Aderlaß.

2.5 Verwendete Substanzen

2.5.1 Altinsulin 4 IE i.v.

1 ml Altinsulin (Actrapid^{R}) ≙ 40 IE wurde mit aq. dest. 1:10 verdünnt. 1.0 ml dieser Lösung entsprechen 4 IE Altinsulin . Verabreicht wurde die Substanz langsam in die Schwanzvene.

2.5.2 Melatonin 50 µg

Melatonin wurde bei allen Experimenten in gleicher Dosierung verabreicht. Zu diesem Zweck wurden 10 mg Melatonin in Trockenform (Fa SERVA) in Aethanol und aq. dest. (3 ml Aethanol + 7 ml aq. dest.) aufgelöst.
Nach Verdünnung von 1 ml 1:20 mit aq. dest. entsprechen 1.0 ml der neuen Lösung 50 µg Melatonin. Die Art und der Zeitpunkt der Verabreichung ist der Beschreibung der einzelnen Versuchsgruppen zu entnehmen.

2.5.3 Wachstumshormon 50 µg

Die Herstellung der Lösung erfolgte nach folgendem Schema:
1 mg Wachstumshormon in Trockenform wurde in 2 ml aq. ad

injectabilia aufgelöst. Nach einer Verdünnung von 1 ml 1:10 entsprechen 1 ml der neuen Lösung 50 µg Wachstumshormon.

2.5.4 L-Dopa 5 µg

10 mg L-Dopa Trockensubstanz wurden in 10 ml aq. dest. aufgelöst, anschließend 1 ml 1:10 mit aq. dest. verdünnt, danach erneut 1:20 verdünnt, sodaß 1 ml der zuletzt entstandenen Lösung 5 µg L-Dopa entsprach.

2.5.5 Nacl

0.9 %iges Nacl wurde in den Kontrollgruppen in gleicher Menge gespritzt, in der die Wirksubstanzen in den Untersuchungsgruppen aufgelöst wurden.

2.6 Blutgewinnung und Umgang mit den entnommenen Blutproben

Der Zeitplan der Blutentnahmen ist der Beschreibung der einzelnen Versuchsgruppen zu entnehmen.
Das Blut wurde mittels Aderlaß gewonnen. Pro Ratte wurden konstant 4 ml Blut gewonnen, das in eisgekühlten Zentrifugenröhrchen gesammelt wurde. Das so gewonnene Blut wurde im Anschluß 20 min. lang bei 400 U/min. zentrifugiert und das Serum in Eppendorf-Reaktionsgefäße pipettiert. Die Serumproben wurden in einem Gefrierschrank bei -70 °C aufbewahrt.
Die für die Blutglucose-Messung bestimmten Proben wurden unmittelbar nach Blutgewinnung in spezifischen Reaktionsgefäße gesammelt.

2.7 Messverfahren

Die Messung der Blutglucose erfolgte durch einen Zentrifugal-Analysator vom Typ Gemini (Electro-Nucleonics Inc.). Melatonin und Wachstumshormon wurden nach dem Prinzip des RIA (Radio-Immuno-Assay) gemessen.

2.7.1 Melatoninbestimmung

2.7.1.1 Extraktion von Melatonin

Melatonin wurde mittels Chloroform aus dem Serum extrahiert.

benötigt wurden: 500 µl Serum
Chloroform 5 ml
0.1M Na HCO_3-Puffer, PH 10.25
Gelatinepuffer PH 7.4 (eigene Herstellung siehe Anhang)
aq. dest.

Vorgehen:

500 µl Serum werden mit 5 ml Chloroform 20 min lang vorsichtig geschüttelt,der Ueberstand daraufhin vorsichtig abgesaugt.Nach Zusatz von 1 ml0.1M $NaHCO_3$-Puffer wird das Gemisch kurz von Hand geschüttelt,wonach der Ueberstand wiederum abgesaugt wird.Nach Zusatz von 1 ml aq. dest. wiederum kurzes Schütteln und Absaugen des Ueberstandes. Eindampfen in Wasserbad 37°C.Der Ueberstand wird in 1 ml Gelatinepuffer aufgelöst.
Jeweils 2 x 200 µl pro Probe werden für die RIA-Bestimmung in RIA-Röhrchen pipettiert.

2.7.1.2 RIA-Bestimmung

Die RIA-Bestimmung erfolgte nach einem Doppeltantikörper-Verfahren in Anlehnung an die Methode von Rollag und

Niswender (Rollag und Niswender,1976).
Der Assay wurde in einem Ansatz durchgeführt,wobei für jede Probe eine Doppeltbestimmung durchgeführt wurde.
Als Tracer diente das Melatoninanalog N-3-(4-Hydroxyphenyl)-propionyl-5-Methoxytryptamin,das nach eigener Laborvorschrift im Labor hergestellt wurde (Banti, 1986).
Die Jodierung des Melatoninanalogs erfolgte nach eigener Laborvorschrift mittels J^{131}.
Zur Trennung des Reaktionsgemisches wurde eine SEP-PAK C 18 Kartusche verwendet.Nach Equilibrierung mit Methanol und Wasser wurde freies unreagiertes Jod und Tracer mit einem Methanol-H_2O Stufengradienten (1/9-9/1) eluiert.
Das freie Jod wurde als erstes aus der Umkehrsäule eluiert.

benötigt wurden: AK I,bezogen von DRG
AK II RD 1.7,bezogen von Wellcome Reagents,Ltd
Tracer (100 µl=15.000 cpm)
NRS (normal rabbit serum) 0.3 %ig
Standardserum 3.12 pg% -400 pg%
Gelatinepuffer

Vorgehen:
Antikörperverdünnung AK I:das AK I wurde in 5 ml Gelatinepuffer gelöst,anschließend 1:6 verdünnt und mit 0.3%igem NRS gemischt.
Antikörperverdünnung AK II: das AK II wurde in Gelatinepuffer derart verdünnt,dass jeweils 200 µl der Lösungen Konzentrationen zwischen 3.12 pg% bis 400 pg% enthielten.

Tab 1: Arbeitsschema für die RIA-Bestimmung von Melatonin

	Total	NSB nicht spez. Bindung	B_0	Standard	Serumprobe
Serumproben	—	—	—	—	200 µl
Standard-Verdünnung	—	—	—	200 µl	—
AK I	—	—	—	50 µl	50 µl
Tracer	100 µl	100 µl	100 µl	100 µl	100 µl
Inkubation 24 Stunden bei 4° C					
AK II	—	50 µl	50 µl	50 µl	50 µl
Inkubation 24 Stunden bei 4° C					
Gelatinepuffer	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml
Zentrifugieren und Dekantieren					

Der Ueberstand wurde 1 min lang im Gamma Counter (A 800 CD-Packard) gemessen.Die Quantität des Melatonins wurde mittels eines Computerprogrammes berechnet. Die Ergebnisse sind ausgedrückt als pg/ml.

2.7.2 Wachstumshormonbestimmung

Die Bestimmung des Wachstumshormons erfolgte mittels eines Doppeltantikörperverfahrens nach den Angaben des NIAMDD,NIH (Bethesda,Maryland, USA).

2.7.2.1 Jodierungsverfahren

Die Jodierung erfolgte in einer abgewandelten Form der Chloramin T-Methode nach Greenwood und Hunter (Greenwood und Hunter, 1966).

2.7.2.1.1 Reagenzien

Chloramin T (20 mg ad 100 ml aq.dest.)

Natriumdisulfid

J^{125} Kaliumjodid

PBS-Puffer PH 7.4 (eigene Herstellung, siehe Anhang)

Transfer-Lösung: 10 mg KJ
100 mg BSA
10 mg Bromphenolblau

2.7.2.1.2 Vorbereiten der Trennsäule

Zum Trennen des markierten von unmarkiertem Protein wird eine Sephadex G-10 Fertigsäule verwendet.Diese muß vor Gebrauch mit 50 ml PBS gespült werden. Der Puffer ist bis auf die Oberfläche des Gels abzulassen.

2.7.2.1.3 Vorgehen

1 /ug WH in 10 $NaHCO_3$
+ 10 /ug 0.5M Phosphatpuffer PH 7.4
+ 5 /ug Chloramin T
werden 45 sec lang vorsichtig geschüttelt
+ 30 /ug Na-Disulfid (20 mg/100 ml)
+200 /ug Transfer-Lösung

Auftragen auf die Trennsäule,anschließend mit PBS-Puffer ausspülen.Die dunkelblaue Bande wird gesammelt.Diese stellt den jodierten Tracer dar.

2.7.2.2 RIA-Bestimmung

benötigt werden: AK I anti rat serum monkey (NIADKK A-rat GH-4)
monkey whole serum
standard rat GH (NIAMD-rat-GH RP-1)
AK II: goat anti monkey gamma globulin
Puffer PH 7.4
Standardserum
jodierter Tracer (100 µl: 15.000 cpm)

Der Assay wurde in einem Ansatz durchgeführt,wobei für jede Probe eine Doppeltbestimmung durchgeführt wurde.Das Standardserum wurde mit Puffer im Verhältnis 1:25 verdünnt.
Für die Standardkurve wurde eine Verdünnungsreihe von 1:2 angefertigt,sodaß in 100 µl 6.25,12.5,25,50,100 bzw. 200 ng Wachstumshormon (WH) enthalten sind.
Das monkey whole serum wurde im Verhältnis 1:160 mit Puffer, der erste Antikörper (AKI) im Verhältnis 1:1600 mit Puffer verdünnt.Vor Zusammenmischen beider Lösungen wurden 50 µl monkey whole serum zu der unspezifischen Bindung (NSB) pipettiert.

Tab. 2: Arbeitsschema für die RIA-Bestimmung von WH

	Total	NSB	B_0	Standard	Serumproben
Plasma	---	---	---	---	50 µl
Standard	---	---	---	50 µl	---
Puffer	---	100 µl	100 µl	100 µl	100 µl
AK I monkey whole serum	---	---	50 µl	50 µl	50 µl
monkey whole serum	---	50 µl	50 µl	50 µl	50 µl
Tracer					
Mischen, Inkubieren bei 4°C über 48 Stunden					
AK II (1:12 mit Puffer verd.)	---	50 µl	50 µl	50 µl	50 µl
Mischen, Inkubieren bei 4°C über 24 Stunden					
Puffer	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml
Zentrifugieren	(20` bei 4000 Upm)				

Nach Absaugen des Ueberstandes mittels Wasserstrahlpumpe wird das Präzipitat 1 min lang im Gamma-Counter gemessen. Die

Ergebnisse sind ausgedrückt als ng/ml.

2.8 Statistische Analyse

Die statistische Signifikanz der Konzentrationsdifferenz wurde anhand des Student - t - Tests nach folgender Formel berechnet:

$$t = \frac{\bar{x} - \bar{x}_2}{S_d} \cdot \sqrt{\frac{N_1 \cdot N_2}{N_1 + N_2}}$$

wobei:

$$S_d^2 = \frac{(x_1 - \bar{x}_2)^2 + (x_2 - \bar{x}_2)^2}{N_1 + N_2 - 2}$$

aus: K. Rauscher,J. Voigt,J. Wilke und K. TH. Wilke (1968) Chemische Tabelle und Rechentafeln für die analytische Praxis. VEB Deutscher Verlag,Leipzig,S. 272

Es wurden zwei Signifikanzniveaus unterschieden:

* < p 0.05 statistisch signifikant

** < p 0.01

*** < p 0.001 statistisch hoch signifikant

3. EXPERIMENTELLE PROTOKOLLE

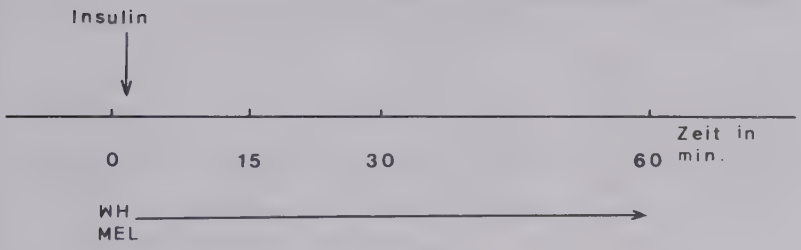
3.1 Gruppe I

Wirkung von Insulin auf die Serumkonzentration von Blutzucker (BZ),Wachstumshormon (WH) und Melatonin (MEL)

4 IE Altinsulin wurden in die Schwanzvene gespritzt. Die Konzentration der Blutglucose und die Serumkonzentration von WH und MEL wurde unmittelbar vor der Gabe von Insulin (= Zeitpunkt 0`),bzw. 15 min,30 min und 60 min nach Verabreichung gemessen.

Pro Zeitpunkt wurde das Serum von jeweils sechs Ratten gemessen.

Schema 1: Arbeitsschema für Gruppe I



3.2 Gruppe II

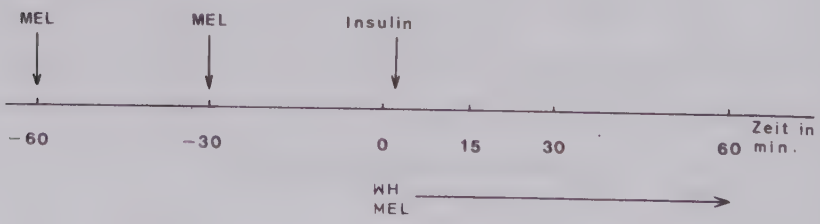
Wirkung einer Melatoninvorbehandlung auf die Sekretion von Wachstumshormon (WH) und Melatonin (MEL) nach Gabe von Insulin.

50 µg Melatonin wurden zweimal (2x) in halbstündigem Abstand zu den Zeitpunkten -60 ` bzw. -30 ` subcutan (s.c.) verabreicht. 30 min nach der zweiten Melatoningabe wurde Altinsulin (4IE) in die Schwanzvene gespritzt.

Gemessen wurde die Serumkonzentration von WH und MEL unmittelbar vor (Zeitpunkt 0`), bzw. 15 min, 30 min und 60 min nach Insulingabe.

Pro Zeitpunkt wurde das Serum von jeweils sechs Ratten gemessen.

Schema 2 : Arbeitsschema für Gruppe II



In der Kontrollgruppe erhielten sechs Ratten NaCl (2 x 1.0 ml) anstatt Melatonin. Insulin wurde in gleicher Dosis verabreicht.

3.3 Gruppe III

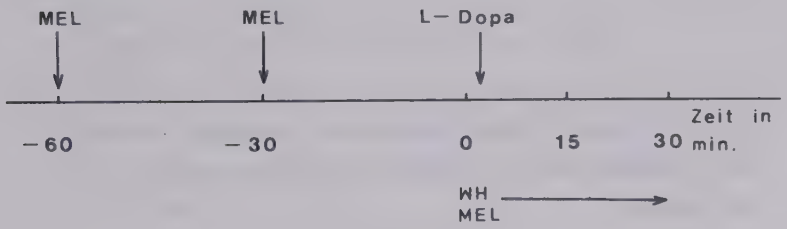
Wirkung einer Melatoninvorbehandlung auf die Sekretion von Wachstumshormon (WH) und Melatonin (MEL) nach Gabe von L-Dopa.

50 µg Melatonin wurden zweimal in halbstündigem Abstand zu den Zeitpunkten -60 bzw. -30 s.c. verabreicht. 30 min nach der zweiten Melatoningabe wurden 5 µg L-Dopa in die Schwanzvene gespritzt.

Die Serumkonzentration von WH und MEL wurde unmittelbar vor (Zeitpunkt 0`),bzw. 15 min und 30 min nach Gabe von L-Dopa gemessen.

Pro Zeitpunkt wurde das Serum von jeweils sechs Ratten gemessen.

Schema 3 : Arbeitsschema für Gruppe III



In der Kontrollgruppe erhielten sechs Ratten NaCl (2 x 1.0 ml) anstatt Melatonin.L-Dopa wurde in gleicher Dosis verabreicht.

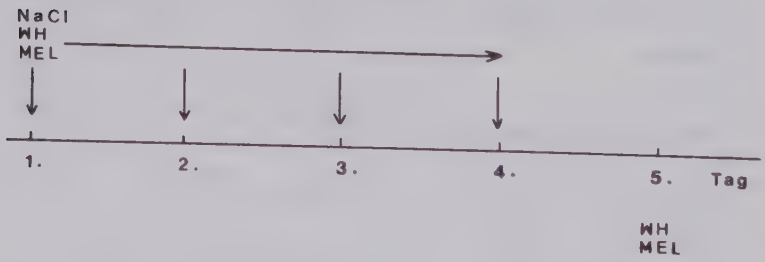
3.4 Gruppe IV

Wirkung einer vier-tägigen Melatonin bzw. Wachstumshormonvorbehandlung auf die Serumkonzentration von WH und Melatonin.

Verabreicht wurden sechs Ratten vier Tage lang 50 µg Melatonin subcutan.
Weitere sechs Ratten erhielten unter denselben Bedingungen 50 µg Wachstumshormon.

Gemessen wurde am fünften Tag die Serumkonzentration von Wachstumshormon und Melatonin.

Schema 4 : Arbeitsschema für Gruppe IV



Als Kontrollgruppe dienten sechs Ratten, die anstatt Melatonin bzw. Wachstumshormon 1.0 ml NaCl s.c. vier Tage lang erhalten hatten.

4 ERGENISSE

4.1 Gruppe I

Wirkung von Insulin auf die Serumkonzentration von Blutzucker ,Wachstumshormon und Melatonin

Tab. 3: Wirkung von Insulin auf die Serumkonzentration von Blutzucker (BZ)

	0`	15`	30`	60`
BZ (mg/100 ml)				
$\bar{x} \pm$ SA	142±8.9	93±10.7	62.8±5	52±9.6
n=6				
stat. Signif.				
p <		0.001	0.001	0.05

Die Konzentration von Blutzucker zeigt 15 min nach Insulingabe mit 93±10.7 mg/100ml bzw. 30 min nach Insulingabe mit 62.8±5 mg/100ml einen statistisch hochsignifikanten Abfall ($p < 0.001$).Auch 60 min nach Insulinverabreichung zeigt der Verlauf der Blutglucose eine abfallende Tendenz ($p < 0.05$).

Tab. 4: Wirkung von Insulin auf die Serumkonzentration von Wachstumshormon

	0`	15`	30`	60`
WH (ng/ml)				
$\bar{x} \pm$ SA	33.8±5	49.8±8	38.8±3.6	35.5±4.3
n=6				
stat. Signif.				
p <		0.01	0.01	0.05

Liegt die Konzentration von WH zum Zeitpunkt 0` (vor Insulingabe) um 33.8±5 ng/ml, so steigt sie 15 min nach Insulingabe auf 49.8±ng/ml an ($p < 0.01$),um nach weiteren 15 min auf 38.8±3.6 ng/ml abzufallen ($p < 0.01$). 60 min nach Insulingabe zeigt die Konzentration von WH mit 35.5±4.3 ng/ml wieder einen Wert,der mit der Ausgangskonzentration vergleichbar ist.

Tab. 5: Wirkung von Insulin auf die Melatonin-Serumkonzentration

	0`	15`	30`	60`
MEL (pg/ml)				
$\bar{x}$± SA	58.12±6	23.3±2.4	83.2±4.7	44.3±2
stat. Signif.				
p		0.001	0.001	0.001

Melatonin fällt von einer Ausgangskonzentration um 58.12±6 pg/ml 15 min nach Insulingabe stat. hochsignifikant ($p < 0.001$) auf 23.3±2.4 pg/ml ab.
Nach weiteren 15 min steigt die Melatoninserumkonzentration auf 83.2±4.7 pg/ml an ($p < 0.001$),um innerhalb der nächsten 30 min (≙ 60 min nach Insulingabe) auf 44.3±2 pg/ml abzufallen.

Die Abbildung auf der nächsten Seite zeigt den Verlauf von Blutzucker,WH und MEL auf einer Graphik dar.

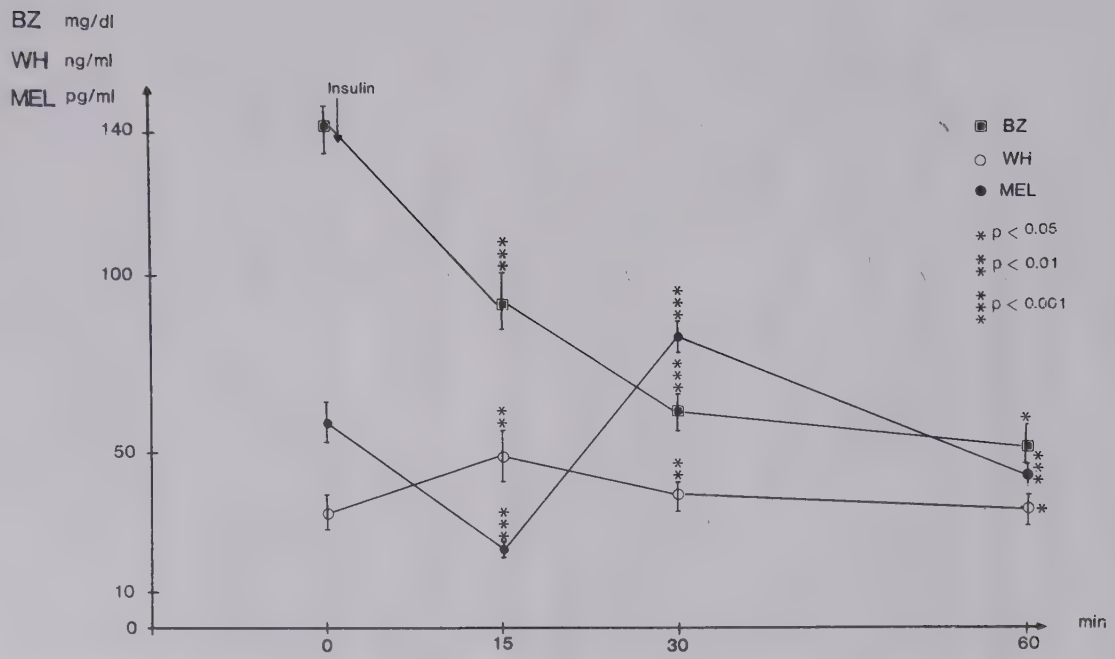


Abb. 4: Wirkung von Insulin auf die Serumkonzentration von Blutzucker (BZ),Wachstumshormon (WH) und Melatonin (MEL). ($\bar{x} \pm SA$).
Insulin wurde unmittelbar nach Zeitpunkt 0`gespritzt. WH und MEL zeigen nach Insulingabe einen entgegengesetzten Verlauf.Dieser ist während der ersten 15 min nach Insulingabe nahezu spiegelbildlich.Nach 30 min zeigt Melatonin einen reaktiven Anstieg.

4.2 Gruppe II

Wirkung einer Melatoninvorbehandlung auf die Sekretion von Wachstumshormon und Melatonin nach Gabe von Insulin

Tab. 6: Wirkung einer Melatoninvorbehandlung auf die Serumkonzentration von WH nach Insulingabe

	0`	15`	30`	60`
WH (ng/ml)				
$\bar{x} \pm$ SA	5.23±0.6	7.9±0.4	2.45±0.8	1.62±0.8
n=6				
stat. Signif.				
p <		0.001	0.001	0.05

Wachstumshormon steigt 15 min nach Insulingabe von einer Ausgangskonzentration um 5.23±0.6 ng/ml auf 7.9±0.4 ng/ml an ($p < 0.001$).30 min nach Insulingabe ist die Serumkonzentration gesunken ;auch innerhalb der nächsten 30 min fällt sie auf 1.62±0.8 ng/ml ab ($p < 0.001$).

Tab. 7: Wirkung einer Melatoninvorbehandlung auf die Serumkonzentration von Melatonin nach Insulingabe

	0`	15`	30`	60`
MEL (pg/ml)				
$\bar{x} \pm$ SA	113±12	64±11	94.3	118±16.7
stat. Signif.				
p <		0.001	0.001	0.05

Melatonin fällt von einer mittleren Ausgangskonzentration von 113±12 pg/ml 15 min nach Insulingabe stat. hochsignifikant ($p < 0.001$) auf 64±11 pg/ml ab,um innerhalb der nächsten 15 min wieder auf 94.3±25 pg/ml anzusteigen (p 0.001).

In der Kontrollgruppe eregeben sich folgende Vergleichswerte:

Tab. 8: Kontrollverlauf von WH nach Insulingabe

	0`	15`	30	60`
WH (ng/ml)				
$\bar{x}$ ± SA	23.4±5.4	54.3±4.7	47.7±4.8	32.6±7.2
stat. Signif.				
p <	0.001	0.05	0.001	

Tab. 9: Kontrollverlauf von MEL nach Insulingabe

	0`	15`	30`	60`
MEL (pg/ml)				
$\bar{x}$ ± SA	72.7±3	47.8±12	68.8±7.4	65.7±7.2
stat. Signif.				
p <	0.001	0.01	0.05	

In der Kontrollgruppe steigt die Konzentration von WH von Ausgangswerte um 23.4±5.4 ng/ml 15 min nach Insulingabe stat. hochsignif. ($p < 0.001$) um nahezu das Doppelte (auf 54.3±4.7) an.Im weiteren Verlauf zeigt sie eine zunächst stat. signifikante ($p < 0.05$),im weiteren Verlauf jedoch stat. hochsignif. abfallende Tendenz ($p < 0.001$) (32.6±7.2 ng/ml 60 min nach Insulingabe).

Entsprechend fällt die Konzentration von Melatonin 15 min nach Insulingabe von Ausgangswerte um 72.7±3 pg/ml auf 47.8±12 pg/ml ab ($p < 0.001$),um im weiteren Verlauf auf 68.8±7.4 pg/ml anzusteigen ($p < 0.01$).60 min nach Insulingabe beträgt die Konzentration von Melatonin 65.7±7.2 pg/ml.

Die folgende Abbildung zeigt in einer Graphik den Verlauf von WH und MEL auf eine Insulingabe nach Melatoninvorbehandlung im Vergleich zu der Kontrollgruppe.

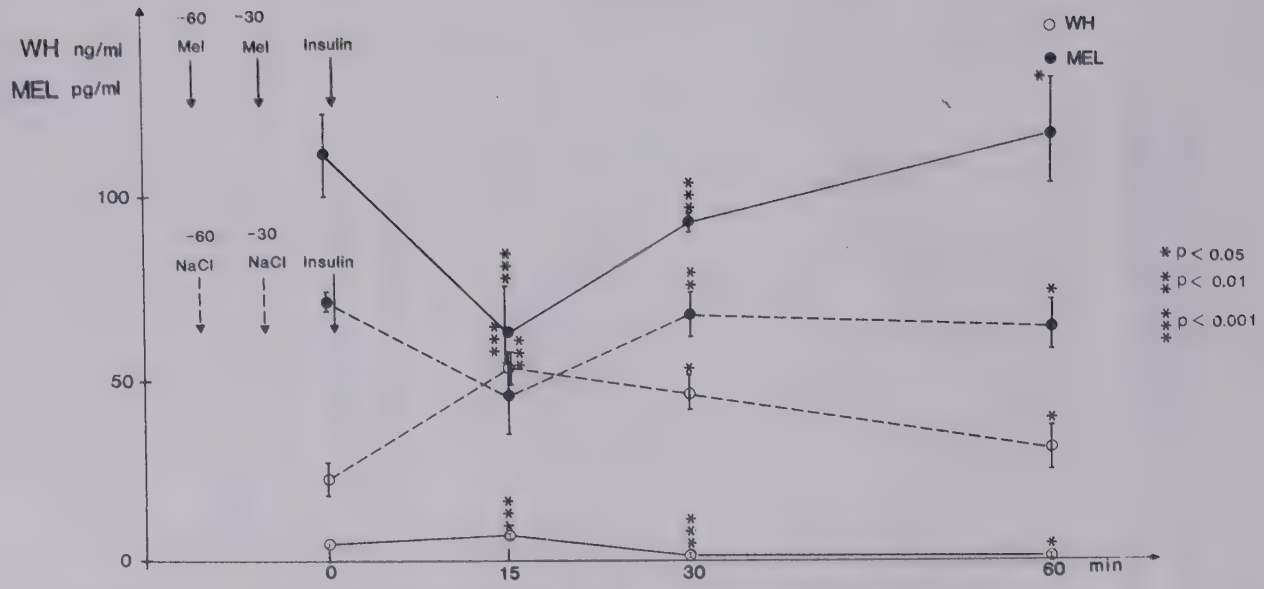


Abb. 5: Wirkung einer Melatoninvorbehandlung auf die Serumkonzentration von Wachstumshormon (WH) und Melatonin (MEL) vor und nach Gabe von Insulin (durchgezogene Linie) ($\bar{x} \pm SA$). Vergliechen dazu sei die Kontrollgruppe mittels NaCl (gestrichelte Linie).
Insulin wurde unmittelbar nach Zeitpunkt 0` gespritzt (30 min nach der zweiten Melatoningabe).
Die Melatoninvorbehandlung unterdrückt weitgehend den Sekretionsstimulus von Insulin auf das Wachstumshormon.

4.3 Gruppe III

Wirkung einer Melatoninvorbehandlung auf die Sekretion von Wachstumshormon und Melatonin auf die Gabe von L-Dopa.

Tab. 10 : Wirkung einer Melatoninvorbehandlung auf die Serumkonzentration von WH nach Gabe von L-Dopa

	0`	15`	30`
WH (ng/ml)			
$\bar{x} \pm SA$	3.2±0.9	2.9±0.7	11.55±3.1
n=6			
stat. Signif.			
p <	0.05	0.001	

Die Konzentration von Wachstumshormon liegt zum Zeitpunkt 0`bei 3.2±0.9 ng/ml. 15 min später ist sie mit 2.9±0.76 ng/ml praktisch unverändert ($p < 0.05$).Erst 30 min nach Gabe von L-Dopa zeigt sie einen Anstieg auf 11.55±3.1 ($p < 0.001$).

Tab. 11: Wirkung einer Melatonivorbehandlung auf die Serumkonzentration vonMEL nach Gabe von L-Dopa

	0`	15`	30`
MEL (pg/ml)			
$\bar{x} \pm SA$	144.4±32	107.8±8.1	78.3±9.6
n=6			
stat. Signif.			
p <	0.05	0.001	

Melatonin fällt von einer Ausgangskonzentration bei 144.48 ±32 pg/ml erst 30 min nach L-Dopa-Gabe stat. hochsignif. ab ($p < 0.001$),nachdem in den ersten 15 min ein leichter Abfall zu verzeichnen war ($p < 0.05$).

In der Kontrollgruppe verhielten sich WH und MEL folgendermaßen:

Tab.12: Kontrollverlauf von WH nach Gabe von L-Dopa

	0`	15`	30`
WH (ng/ml)			
$\bar{x} \pm SA$	24.42±4.3	47.9±3.3	80.15±7.5
n=6			
stat. Signif.			
p <		0.001	0.001

15 min nach Gabe von L-Dopa steigt die Serumkonzentration von WH von einer Ausgangskonzentration um 24.42±4.3 ng/ml stat. hochsignif. ($p < 0.001$) auf 47.9±3.3 ng/ml an,um sich in den darauffolgenden 15 min auf 80.15±7.5 ng/ml nahezu zu verdoppeln.

Tab. 13 : Kontrollverlauf von Melatonin nach Gabe von L-Dopa

	0`	15`	30`
MEL (pg/ml)			
$\bar{x} \pm SA$	59.4±4.8	46.07±5.8	36.8±3.8
n=6			
stat. Signif.			
p <		0.01	0.001

Melatonin fällt von einer mittleren Ausgangskonzentration um 59.4±4.8 pg/ml innerhalb von 15 min auf 46.07±5.8 pg/ml ab ($p < 0.01$),bzw. innerhalb von 30 min nach Gabe von L-Dopa auf 36.8±3.8 pg/ml ab ($p < 0.001$).

Die folgende Abbildung zeigt auf einer Graphik den Verlauf von WH und MEL auf die Gabe von L-Dopa nach Melatoninvorbehandlung im Vergleich zu der Kontrollgruppe.

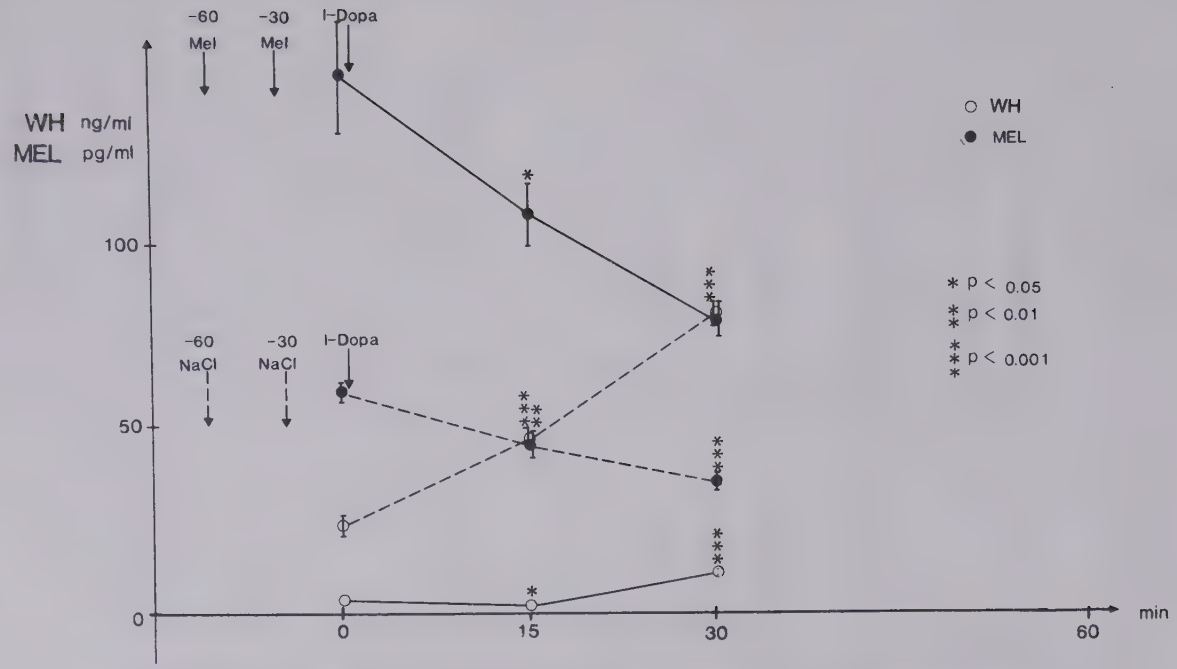


Abb.6: Wirkung einer Melatoninvorbehandlung auf die Serumkonzentration von Wachstumshormon (WH) und Melatonin (MEL) vor und nach Gabe von L-Dopa (durchgezogene Linie) ($\bar{x} \pm SA$). Vergliechen dazu sei die Kontrollgruppe (gestrichelte Linie).L-Dopa wurde unmittelbar nach Zeitpunkt 0`gespritzt - 30 min nach der zweiten Melatoningabe -.
Nach Melatoninvorbehandlung wird der Anstieg von WH auf die Gabe von L-Dopa zeitlich verzögert und in der Höhe reduziert.

4.4 Gruppe IV

Wirkung einer vier-tägigen Melatonin- bzw. Wachstumshormonbehandlung auf die Serumkonzentration von Wachstumshormon bzw. Melatonin

4.4.1: Wirkung von Melatonin auf die Serumkonzentration von WH und MEL

Tab. 14: Wirkung einer vier-tägigen Behandlung mit Melatonin (s.c.) auf das WH und MEL im Vergleich mit der Kontrollgruppe

	WH (ng/ml)	MEL (pg/ml)
Melatonin s.c. 4 Tage lang $\bar{x} \pm SA$ n=6	1.7±1.2	185.49±40
NaCl s.c. 4 Tage lang $\bar{x} \pm SA$ n=6	16.06±4.8	70.92±6.3

4.4.2: Wirkung von Wachstumshormon auf die Konzentration von MEL und WH

Tab. 15: Wirkung einer vier-tägigen Behandlung mit WH (s.c.) auf das MEL und WH im Vergleich mit der Kontrollgruppe

	MEL (pg/ml)	WH (pg/ml)
Wachstumshormon s.c. 4 Tage lang		
$\bar{x} \pm SA$	3.13±1.5	33.08±8.7
n=6		
NaCl s.c. 4 Tage lang		
$\bar{x} \pm SA$	70.92±6.8	16.06±4.8
n=6		

Nach einer vier-tägigen Behandlung mit Melatonin fällt die Serumkonzentration von WH mit 1.7±1.2 ng/ml gegenüber 16.06±4.8 ng/ml aus der Kontrollgruppe stat. hochsignifik. ($p < 0.001$) ab.Melatonin ist mit 185.4±40 pg/ml gegenüber 70.92± 6.8 pg/ml erhöht ($p < 0.001$).

Die vier-tägige Behandlung mit WH senkt die Serumkonzentration von MEL auf 3.13±1.5 pg/ml.
Diese ist gegenuber 70.92±6.8 pg/ml aus der Kontrollgruppe herabgefallen ($p < 0.001$).Die Serumkonzentration von WH ist mit 33.08±8.7 ng/ml gegenüber 16.06±4.8 ng/ml aus der Kontrollgruppe entsprechend höher ($p < 0.001$).

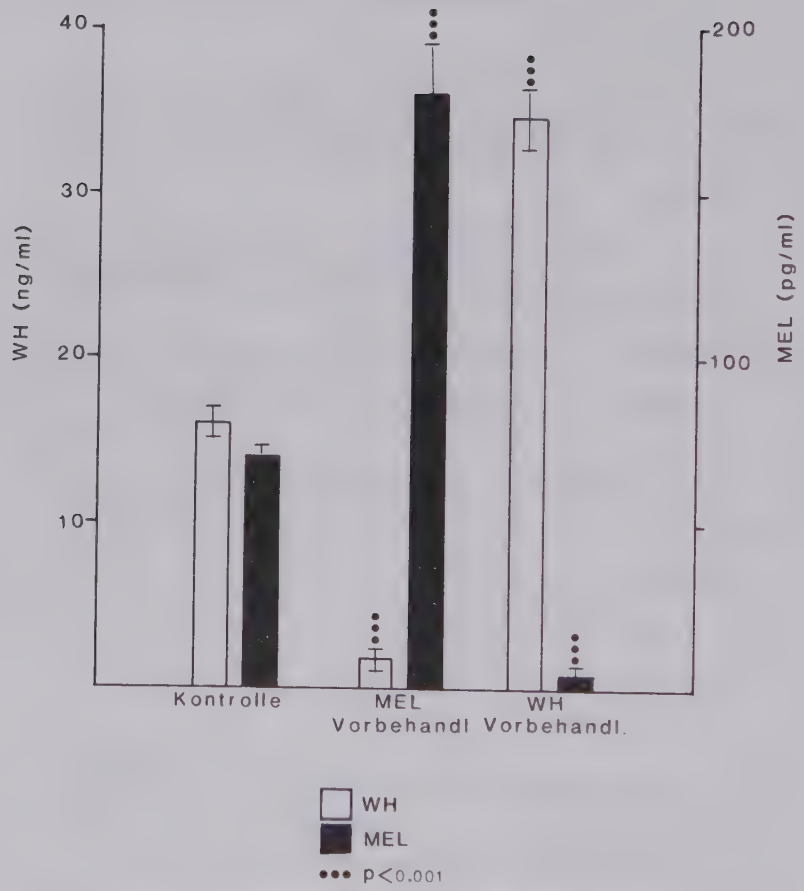


Abb. 7: Wirkung einer vier-tägigen Melatoninbehandlung auf die Serumkonzentration von Wachstumshormon (WH) und Melatonin (MEL) - 2. Säule - ($\bar{x}$ + SA, n=6)
Wirkung einer vier-tägigen Behandlung mit Wachstumshormon auf die Serumkonzentration von Melatonin (MEL) und Wachstumshormon (WH) - 3. Säule - ($\bar{x}$ + SA, n=6)
Vergliechen seien die Werte mit der Kontrollgruppe (vier-tägige Behandlung mit NaCl) - 1. Säule ($\bar{x}$ + SA, n=6).
Melatonin und Wachstumshormon üben eine reziproke Hemmung auf die basale Sekretion aus.

5 DISKUSSION

In der vorliegenden Arbeit wurden Insulin und L-Dopa als Sekretionsstimuli für die Ausschüttung von Wachstumshormon verwendet.

Bevor die eigentlichen Ergebnisse dieser Arbeit erläutert werden,sei das Interesse daraufhin gerichtet,über welche Mechanismen Insulin bzw. L-Dopa die Sekretion von WH stimulieren könnten.

Es war Roth (Roth et al,1963),die als erste einen abrupten Anstieg der WH-Serumkonzentration auf die Gabe von Insulin beim Menschen in einem Abfall der Blutglucose begründet sah.

Bivens zeigte,daß der Serotoninantagonist Cyproheptadin die insulinerge Sekretion von WH beim Menschen effektiv hemmt (Bivens et al, 1973).Auf der Basis dieser und anderer Ergebnisse,wonach der intracerebrale Serotoningehalt nach Insulingabe ansteigt (Gordon und Meldrum,1970)postuliert er für die Theorie,daß die insulinerge WH-Sekretion über serotoninerge Mechanismen stimuliert wird.

Tierexperimentelle Untersuchungen haben ergeben,daß bei der Ratte Läsionen im Bereich der nuclei paraventriculares eine Blockade der insulininduzierten GRF-Aktivität mit Verlust der WH-Sekretion auf hypophysärer Ebene herbeiführen (Pecile et al, 1982).

Eine weitere Möglichkeit bietet Shibasaki (Shibasaki et al, 1985) nach welchem der hypoglykämisch induzierte Anstieg von WH auf eine Hemmung der Somatostatinsekretion beruhen könnte.Dies schließt der Author daraus,daß bei gesunden Probanden nach Gabe einer hohen Dosis GRF (200 µg

GRF_{44}) eine zweite GRF_{44}-Gabe keine Sekretion von WH bewirkt,wohingegen eine darauffolgende Insulingabe (0.1 IE/Kg KG) die Ausschüttung von WH von neuem steigert. Den fehlenden Anstieg von WH auf die zweite GRF-Gabe führt Shibasaki auf eine Desensibilisierung der WH-Receptoren zurück,den Anstieg von WH auf die Insulingabe vermutet Shibasaki in einer durch Catecholaminen induzierten Hemmung der Somatostatinsekretion begündet (Shibasaki et al, 1985).

Nach Boyd stellen Insulin und L-Dopa Stimuli auf die WH-Sekretion dar,die ihre Wirkung über voneinander unabhängigen Mechanismen ausüben.Er zeigte,daß beim Menschen der stimulierende Effekt vonL-Dopa auf das WH durch eine gleichzeitige Gabe von Glucose nicht unterdrückt werden konnte (Boyd et al, 1970).

Für L-Dopa ergeben sich folgende Möglichkeiten:
Ein Mechanismus,über dem L-Dopa die Sekretion von WH stimulieret,könnte darin bestehen,daß L-Dopa nach Umwandlung zu Dopamin in Konkurrenz mit Seroronin um die serotoninergen Receptoren tritt (Butcher et al,1970,Ng et al,1970). Entsprechend einer Studie von Kansal (Kansal et al,1971) stimuliert hingegen L-Dopa die WH-Sekretion über eine Reizung α-adrenerger Receptoren.
Martin und andere (Martin et al,1978) beobachteten,daß beim Menschen die mittels L-Dopa induzierte Sekretion von WH durch Phentolamin,einem α-Receptorenblocker, unterdrückt werden kann und führt als Erklärung an,daß L-Dopa nach Umwandlung zu Norepinephrin (NE) auf das α-adrenerge System wirken könnte.

Neuerdings konnte mittels RIA-Messung gezeigt werden,daß bei Menschen oral verabreichtes L-Dopa die Sekretion von humanem GHRH stimuliert,und daß die Sekretion dieser Substanz eng mit dem Anstieg der peripheren WH-Konzentration korreliert (Donnadieu et al 1985,Chihara et al 1986).

Untersuchungen aus den letzten Jahren deuten daraufhin, daß dem α-adrenergen System ein spezifischerer als bis jetzt vermuteter Einfluß auf die WH-Sekretion zukommen könnte.Manches scheint daraufhin zu deuten,daß das α-adrenerge System die Sekretion von GHRH im Hypothalamus beeinflußen könnte.Dies geht daraus hervor,daß die spontane Sekretionspeaks von WH,die durch die Ausschüttung von GHRH induziert werden (Martin,1980, Wehrenberg et al 1982),nach Vorbehandlung mit Phenoxybenzamin,einem α-adrenergen Antagonist,erlöschen (Martin et al 1978),und daß Phenoxybenzamin die spontane WH-peaks auch dann inhibiert,wenn Kaninchen mit Antisomatostatinserum behandelt worden waren (Chihara et al 1984). Auch die Tatsache,daß die mittels Clonidin induzierte WH-Sekretion bei Ratten völlig erlischt,wenn diese mittels Antiserum gegen GHRH vorbehandelt worden waren,erlischt. (Miki et al 1984) deutet auf diesen Zusammenhang hin.

Möglicherweise stimulieren Insulin und L-Dopa über verschiedene Wege die Sekretion von GHRH aus dem ventromedialem Hypothalamus.

Aus der vorliegenden Arbeit geht hervor,daß Insulin und L-Dopa bei der Ratte die Sekretion von WH stimulieren. Nach i.v. Gabe von Insulin (4 IE Altinsulin) erfolgt der Anstieg von WH rasch innerhalb der ersten 15 min

(Tab. 4,Tab. 8).Inneralb von 60 min nach Insulingabe normalisiert sich die WH-Serumkonzentration (Tab. 4) bzw zeigt sie eine Tendenz inRichtung Ausgangswerte (Tab. 8).

Nach Gabe von L-Dopa ist noch nach 30 min ein Anstieg der WH-Serumkonzentration zu verzeichnen (Tab. 12).

Wachstumshormon und Melatonin zeigen auch nach Gabe von Insulin (Abb. 4) wie auch von L-Dopa (Abb. 6) einen entgegengerichteten Verlauf:

Steigt das WH innerhalb von 15 min nach Insulin (Tab. 4) oder L-Dopa (Tab. 8) an,so zeigt das Melatonin zu diesem Zeitpunkt einen Abfall (Tab. 5 bzw. Tab. 9).

Auch im weiteren Verlauf verhalten sich beide Hormone entgegengesetzt.

Das hier beschriebene Phänomen bestätigt eine Arbeit von Gupta (Gupta et al, 1983),die auf eine Wechselbeziehung zwischen WH und MEL hinweist.Er hatte beobachtet,daß der durch Arginin bzw. Insulin induzierte Anstieg der WH-Serumkonzentration von einem Abfall der Melatoninserumkonzentration begleitet war.Er beschrieb einen signifikanten Abfall der MEL-serumkonzentration schon 10 min nach Insulingabe,was auch in vorliegender Arbeit beobachtet werden konnte.

Ein ähnliches Phänomen weiß auch Silman (Silman et al, 1979) zu berichten mit einer weiteren Substanz epiphysären Ursprungs:

Nach i.v. Gabe von Insulin zeigte 5-Methoxytryptophol einen unmittelbaren Abfallen der Serumkonzentration,der dem Anstieg der WH-Serumkonzentration vorausging.

Bemerkenswert ist in vorliegender Arbeit der Melatoninanstieg 30 min nach Insulingabe,nachdem es bis dahin deutlich abgefallen war.Zu diesem Zeitpunkt ist die WH-Serumkonzentration

wieder relativ abgefallen.Die Konzentration von Melatonin steigt demnach erst an,wenn die nur mäßig erhöhten Werte von WH scheinbar einen entsprechend geringeren negativen Einfluß auf das Melatonin ausüben (Vgl. den 15`Wert aus Tab. 4 und 5 mit 30`-Wert aus den gleichen Tabellen).
In diesem Zusammenhang sei eine Arbeit erwähnt (Riedl, 1983), aus der hervorgeht,daß im Laufe eines Insulintests bei einem an Minderwuchs leidenden Patienten (bei WH-Mangel) der Melatoninspiegel 45 min nach Insulingabe von 55 pg/ml auf 470 pg/ml angestiegen war.

Melatonin und Wachstumshormon scheinen sich gegenseitig negativ zu beeinflußen:Es zeigt sich,daß eine hohe WH-Serumkonzentration den Basalwert von Melatonin senkt (Tab.15),daß hohe Melatoninwerte andererseits die basale Konzentration von WH senken (Tab. 6 ,10,14).

Melatonin hemmt aber nicht nur die basale Sekretion von Wachstumshormon,vielmehr ergibt sich aus dieser Arbeit,daß exogen verabreichtes Melatonin die insulinerge Sekretion von WH weitgehend unterdrückt.
Zwar steigt die Serumkonzentration von WH auch in diesem Falle an,doch liegen die Absolutwerte für WH deutlich niedriger als in der Kontrollgruppe (vgl. Tab.6 mit Tab. 8).
Die Melatoninvorbehandlung vermag ebenso die Antwort von WH auf die Gabe von L-Dopa zu beeinflußen:
WH fällt nach Gabe von L-Dopa nach Melatoninvorbehandlung sogar ab,und der Anstieg von WH (Tab.10) wird gegenüber der Kontrollgruppe zeitlich verzögert (Tab.12).

Die geringe Antwort von Wachstumshormon auf Insulin bzw. L-Dopa läßt vermuten,daß die gewählte Dosis von Melatonin nicht ausreichend hoch war,um die Sekretion von WH vollkommen zu unterdrücken.

Die gleichzeitige Messung der Melatonin- und Wachstumshormonserumkonzentration ergibt: die Melatoninwerte sind nach Melatoninvorbehandlung (Experimentgruppe) vor wie auch nach WH-Stimulation gegenüber den nicht mit Melatonin vorbehandelten Ratten (Kontrollgruppe) höher.
Diese fallen nach Gabe von Insulin bzw. L-Dopa aber in Experiment- und Kontrollgruppe vergleichbar ab,obwohl in der Experimentgruppe das WH nicht erheblich angestiegen ist.
Daraus kann man folgern:
1. bei der Stimulation von WH muß eine Substanz sezerniert werden,die die Melatoninsekretion hemmt.
2. daß die Melatoninsekretion auch dann gehemmt wird,wenn die Ausschüttung von WH mittels Melatonin unterdrückt wird.
Dies legt nahe,daß die melatoninhemmende Substanz oberhalb des durch Melatonin bewirkten Sekretionsblock für das WH sezerniert werden muß.

Melatonin senkt das WH nach s.c. Gabe nicht nur für kurze Zeit,vielmehr dauert die WH-depressorische Wirkung auch 24 Stunden nach der Injektion an (Tab. 14).
Es haben Untersuchungen mit radioaktiv markiertem Melatonin ergeben,daß es aufgrund seiner kurzen Halbwertszeit (Cardinali et al, 1972, Land et al,1979) schnell aus dem Blut verschwindet,um in der Leber zu 6-Hydroxymelatonin hydroxyliert und zu Glucuronid oder Sulfat konjugiert zu werden (Cardinali, 1974, Legait et al, 1978).

Bei einer subcutanen Gabe könnte die Resorption entsprechend des lipophilen Charakters von Melatonin (Lerner et al,1979) so langsam erfolgen daß über eine längere Zeit ein konstanter Spiegel aufrechterhalten werden kann.
Auch in einem anderen Experiment war die (radioimmunologisch) gemessene Melatonin-Serumkonzentration noch 24 Stunden nach einmaliger oraler Gabe von Melatonin über dem Normwert erhöht (Wetterberg et al,1977).

Zusammenfassend bewirken die in dieser Arbeit verwendete Substanzen,die die WH-Sekretion stimulieren,eine Erniedrigung der Melatonin-serumkonzentration.
Die Hemmung der Melatoninsekretion erfolgt aller Wahrscheinlichkeit nach nicht durch das WH selbst,sondern durch eine Substanz,die bei der Stimulierung der WH-Ausschüttung sezerniert wird.
Umgekehrt kann die Gabe von Melatonin den Effekt dieser WH-stimulierenden Substanzen nahezu unterdrücken.
Es ist festzuhalten,daß Melatonin die Antwort von WH auf Substanzen hemmt,die über verschiedene Mechanismen im Hypothalamus (Müller 1973) die WH-Sekretion stimulieren.
Dies legt nahe,daß Melatonin seine Wirkung auf die WH-Sekretion auf einer Ebene entfalten muß,die für alle Sekretionsmechanismen gleich ist.
Gemäß der Theorie von Shibasaki könnte die Blockade des WH-Anstieges durch eine Melatonin-induzierten Sekretion von Somatostatin zu erklären sein (Shibasaki et al,1985)
Tatsächlich berichtet Richardson (Richardson et al, 1981), daß Melatonin (10^{-8}M und 10^{-7}M)die Somatostatinsekretion bei der Ratte in vitro aus Extrakten des mediobasalen Hypothalamus stimuliert.

Melatonin könnte die Sekretion von WH auch über einen Einfluß auf die GHRH-sezernierenden Zellen im Bereich des mediobasalen Hypothalamus (Müller, 1973) regulieren; denkbar wäre auch eine Wirkung von Melatonin auf die hypophysäre WH-Sekretion.
Eine Antwort auf die Frage,ob Melatonin die GHRH-Sekretion hemmt,oder die Somatostatinsekretion stimuliert,könnte die Messung von GHRH bzw. Somatostatin in einer ähnlich angelegten Studie erbringen,in der Melatonin mit Substanzen verglichen wird,die die Sekreiton von WH auf hypothalamischer Ebene stimulieren.
Neuerdings stehen radioimmunologische Messverfahren für die Messung von GHRH zur Verfügung (Donnadieu et al,1985, Chihara et al,1986).

Bezüglich der Möglichkeit,daß Melatonin direkt an der Hypophyse wirken könnte,sei erwähnt,daß Yamashita (Yamashita et al,1977) in einer in vivo Studie am Hund zeigte,daß die Sekretion von 17-Oxosteroide auf die Gabe von LHRH drei Stunden nach einer Melatoninvorbehandlung gegenüber der alleinigen Gabe von LHRH deutlich geringer war.Dies kann als Hinweis gedeutet werden,daß Melatonin direkt an der Hypophyse wirken könnte und daß es nicht spezifisch die Sekretion von WH aus den somatotropen Zellen hemmt.

Auch Smythe und Lazarus haben ihr Interesse auf die Wechselbeziehungen zwischen Melatonin und dem Wachstumshormon gerichtet: Sie hatten beobachtet,daß sowohl Melatonin als auch Cyproheptadin bei der Ratte den auf die Gabe von 5-HTP beobachtete Anstieg von WH hemmen konnte (Smythe und Lazarus, 1973),sowie beim Menschen Melatonin die insulinerge Sekretion von WH unterdrückte (Smythe

und Lazarus, 1974a).
Auf die Daten gestützt,wonach das serotoninerge System eine Rolle in der WH-Sekretion spielen könnte (Collu et al, 1972,Feldman und Lebowitz, 1972,Imura et al, 1971)und auf deren Beobachtung basierend,wonach Melatonin die WH-Sekretion zu hemmen vermag,entwickelten sie eine Theorie,wonach Melatonin aufgrund seiner strukturellen Aehnlichkeit zu Serotonin eine Wechselwirkung mit den serotoninergen Receptoten im Hypothalamus einhergeht.
Auf dém Boden eines kompetitiven Antagonismus führt demnach Melatonin nach dieser Theorie zu einer Hemmung der durch Serotonin stimulierten Sekretion von WH (Smythe und Lazarus, 1974a).
Koulu und Lammintausta zeigten,daß auch beim Menschen Melatonin die Antwort von WH auf die orale Gabe von 5-HTP unterdrückte.
In Anlehnung an die obengenannte Theorie ordnen auch sie dem Melatonin eine hemmende Wirkung auf die hypothalamischen serotoninergen Receptoren (Koulu und Lammintausta,1979) zu.

Die Hypothese,Melatonin wirke als allgemeiner 5-HT-Receptorenblocker wird von manchen Authoren angezweifelt (Trentini et al, 1979),dies umsomehr als erste Schritte in Richtung eines spezifischen Receptorennachweis für Melatonin gelangen: Cardinali zeigte eine hohe Bindungsaffinität von Melatonin zu Membranfraktionen aus dem mediobasalen Hypothalamus (Cardinali et al,1978, Zisapel et al, 1982).

Da in diesem Bereich die Zellen lokalisiert sind,die GHRH bzw. Somatostatin sezernieren (Müller,1973,Richardson et al,1981) gewinnt auch unter diesem Aspekt die Vermutung,

Melatonin könnte in diesem Bereich wirken (indem es entweder die GHRH-Sekretion hemmt oder aber auch die Somatostatinsekretion stimuliert) an Bedeutung.
Ein Ergebnis dieser Arbeit,wonach Melatonin die Wirkung von L-Dopa,von dem erste Hinweise daraufhin deuten,daß es beim Menschen die Sekretion von GHRH stimuliert (Donnadieu et al, 1985,Chihara et al, 1986), zumindest einschränkt,könnte für die Theorie sprechen,daß Melatonin einen Einfluß auf die GHRH-Sekretion oder- Wirkung haben könnte.

Anhang

Abkürzungen: aq. dest. : aqua destillata
WH : Wachstumshormon
MEL : Melatonin
$\bar{x} \pm SA$: Mittelwert $\pm$ Standardabweichung
HVL : Hypophysenvorderlappen
NE : Norepinephrin
NNR : Nebennierenrinde

Herstellung des PBS-Puffers: 10.1 g $Na_2HPO_4 \times 2\ H_2O$
2.45g KH_2PO_4
4.4 g NaCl
ad 1 l aq.dest.
auf PH 7.4 einstellen

Gelatinepuffers PH 7.4 6.9 g $NaH_2PO_4.H_2O$/ l
9.0 g NaCl/l
1.0 g NaN_3/l
1.0 g Gelatine/l
lösen,rühren,erwärmen,abkühlen,und auf PH 7.4 einstellen.

6 ZUSAMMENFASSUNG

Beim Menschen fällt die Melatoninserumkonzentration ab,wenn die Ausschüttung von Wachstumshormon mittels Insulin stimuliert wird (Gupta et al, 1983).Auf der anderen Seite hemmt exogenes Melatonin bei der Ratte (Smythe und Lazarus, 1973) und beim Menschen den auf die Gabe von 5-HTP (Smythe und Lazarus, 1973, Koulu und Lammintausta, 1979) und Insulin (Smythe u. Lazarus 1974a) zu beobachtende Anstieg von Wachstumshormon.

Folgende Untersuchungen wurden an männlichen erwachsenen Ratten durchgeführt,um die Wechselbeziehungen zwischen Melatonin und Wachstumshormon näher zu untersuchen:
1. Verlauf von WH und MEL nach i.v. Gabe von Insulin (4 IE) bzw. L-Dopa (5 µg).
2. Verlauf von WH und MEL nach Vorbehandlung mit Melatonin (50 µg bei -60 und -30 s.c.) und Gabe von Insulin (4 IE) bzw. L-Dopa (5 µg).
3. Basalwert von MEL nach 4-tägiger Behandlung mit WH (4 x 50 µg s.c.).
4. Basalwert von WH nach 4-tägiger Behandlung mit MEL (4 x 50 µg s.c.).

Der Anstieg von Wachstumshormon auf die Gabe von Insulin (p 0.001) bzw. L-Dopa (p 0.001) senkt die periphere Melatoninkonzentration (p 0.001).
Der Abfall des Melatonins nach Stimulation von Wachstumshormon scheint durch eine Substanz bewirkt zu werden,die oberhalb der Zellen ausgeschüttet wird,welche das GHRH sezernieren.
Wachstumshormon und Melatonin zeigen einen annähernd spiegelbildlichen Verlauf während 15-30 min nach Gabe von Insulin bzw. L-Dopa.
Exogen verabreichtes Melatonin senkt die basale und stimulierte Sekretion von WH auf die Gabe von zwei Substanzen,die die WH-Sekretion auf hypothalamischer Ebene verschiedentlich stimulieren.Dies legt nahe,daß Melatonin die Sekretion von Wachstumshormon auf einer für alle Sekretionsmechanismen gemeinsamer Ebene beeinflußt,entweder über eine Hemmung der GHRH-Sekretion oder über eine Stimulation der Somatostatinausschüttung.

7. LITERATURVERZEICHNIS

Ariens-Kappers J. (1979): Short history of pineal discovery and research. Progr. Brain Res.,52;3-23

Ariens-Kappers J. (1983): Innervation of the vertebrate pineal organ. in: J. Axelrod,F; Fraschini and G.P. Velo (Eds) The Pineal Gland and its endocrine Role,Plenum Press,N.Y.,87

Ariens-Kappers J.,Smith A.R.,De Vries R.A.C.. (1979): The mammalian pineal gland and its control of hypothalamic activity.In: The Pineal Gland of Vertebrates including Man. Progr. Brain Res.,52,edited by Ariens-Kappers and P. Pévet,Elsevier,Amsterdam,149-174

Axelrod J. (1974): The Pineal Gland: a neurochemical transducer. Science,184,1341-1348

Banti P. (1986):Zirkulierendes Melatonin bei Kindern während der normalen und gestörten Pubertät und bei Patienten mit Störungen des ZNS. Med. Dissertation,Universität Tübingen

Beck-Friis J.,v. Rosen D.,Kjellman B.F.,Ljungreen J-G., Wetterberg L. (1984): Melatonin in relation to body measures,sex,age,season and the use of drugs in patients with major affective disorders and healthy subjects. Psychoneuroendocrinology,9,261-277

Berblinger W. (1920): Zur Frage der genitalen Hypertrophie bei Tumoren der Zirbeldrüse unter dem Einfluß embryonaler Geschwulstgewebes auf die Drüsen der inneren Sekretion. Virchow's Arch.,277, (Beih.),38-41

Berblinger W. (1932): Zirbel (epiphysis cerebri) und Frühreife. Neue Dtsche Klin.,10,790-797

Berk M.,Finkelstein J.A. (1982): An autoradiographic determination of the efferent projections of the suprachiasmatic nucleus of the hypoyhalamus. Brain Res.,226,1-13

Birau N.,Birau M.,Schloot W. (1981): Melatonin rhythms in human serum. In: Melatonin-Current status and perspectives.Pergamon Press,N;Y.,287-295

Birge C.A.,Jacobs L.S.,Hammer C.T.,Daughaday W.H. (1979): Catecholamine inhibition of prolactin secretion by isolated adenohypophyses. Endocrinology,86,120-130

Bittmann E.L.,Karsch F.J. (1984): Nightly duration of pineal melatonin secretion determines the reproductive response to inhibitory day length in the ewe. Biol. Reprod.,30,585-589

Bivens C.H.,Lebowitz H.E.,Feldman J.M. (1973): Inhibition of hypoglycemia induced growth hormone secretion by the serotonin antagonist cyproheptadine and methysergide. New. Engl. J. Med.,289,236-239

Blackard W.G.,Heidingsfelder S.A. (1968): Adrenergic receptor control mechanism for growth hormone secretion. J. Clin. Invest.,47,1407-1414

Boyd A.E.,Lebowitz A.E.,Pfeiffer J.B. (1970): Stimulation of human GH secretion by L-Dopa. New. Engl. J. Med.,283, 1425-1429

Bowers C.W.,Zigmond R.E. (1979): Localization of neurons in the rat superior cervical ganglion that project into different postganglionic trunks. J. Comp. Neurol.,185, 381-391

Brazeau P.,Rivier J.,Vale W.,Guillemin R (1974): inhibition of rat GH secretion by synthetic somatostatin. Endocrinology,94,184-187

Brown G.M.,Chambers J.W.,Feldman J (1973): Neurotransmitter regulation of growth hormone release.In: Programm of the 3rd Annual Meeting of Society of Neuroscience,404

Brown G.M.,Krieger D.T.,van Woert M.H.,Ambani L.M. (1974): Dissociation of growth hormone and cortisol release following apomorphine. J. Clin. Endocrinol. Metab.,38,1127-1130

Brownstein M,Axelrod J. (1974): The Pineal Gland:24 hour rhythm in norepinephrine tirnover. Science,184,163-165

Brownstein M.,Palkovits J.M.,Saavedra J.M.,Kizer J.S. (1976 a): Distribution of hypothalamic hormones and neurotransmitters within thediencephalon.In: Martini L., Ganong W.F. (eds):Frontiers in Neuroendocrinology,4,1-23

Brownstein M,Palkovits J.M.,Tappaz M.L.,Saavedra M. Kizer J.S. (1976b): effect of surgical isolation of the hypothalamus on its neurotransmitter content. Brain Res.,117,287-295

Butcher L.,Engel J.,Fuxe K. (1970): L-Dopa changes in central monoamine neurons after peripheral decarboxylase inhibition. J; Pharmacol.,23,313-315

Camanni F.,Massara F.,Belforte L?;Molinatti G.M. (1975): Changes in plasma growth hormone levels in normal and acromegalic subjects following administration of 2-bromo- ergocryptine.
J. Endocrinol. Metab.,40,363-366

Cardinali D.P. (1974): melatonin and the endocrine role of the pineal gland.in: Current topics in experimental endocrinology,Vol.2-James V.H.T.,Martini l.,eds.,Academic Press N.Y.,107-128

Cardinali D.P. (1981): Melatonin - A mammalian pineal hormone. Endocr. Rev.,2,327

Cardinali D.P. (1983): Molecular mechanisms of endocrine integration of the central nervous system: an approach through the study of the pineal gland and its innervating sympathetic pathway. Psychoneuroendocrinology,8,3-21

Cardinali D.P.,Vacas M.I. (1984): Pineal Gland,photoperiodic responses and puberty. J. Endocrinol. Invest.,7,157

Cardinali D.P.,Nagle C.A.,Rosner J.M. (1972): Gonadal steroids as modulators of the function of the pineal gland.
Gen. Comp. Endocr.,26,50-58

Cardinali D.P.,Vacas M.I.,Boyer E.E (1978): high affinity binding of melatonin in bovine medial basal Hypothalamus.
IRCS med. Sci,6,357-360

Carter D.S.,Goldman B.D. (1983): Antigonadal effects of timed melatonin infusions in pinealectomized male Djungarian hamsters (Phodopus sungorus sungorus): Duration is the critical factor. Endocrinology,113,1261

Cassone V.M.,Lane R.F.,Melaker M. (1983): Daily rhythms of melatonin metabolism in the medial hypothalamus of the chicken. effects of pinealectomy and exogeneous melatonin. Brain Res.,289, 129-136

Chambers J.W.,Brown G.M. (1976): Neurotransmitter regulation of growth hormone and ACTH in the resus monkey: effects of biogenic amines. Endocrinology,98,420-428

Chihara K. (1981): Neuropeptides and secretion of pituitary hormones.in: Proceedings of 19th Kawaguchiko Conference:Hypothalamus and Pituitary, edites by K. Shizume,H. Imura and Miyai K.,47-79

Chihara K.,Arimura A.,Shally A.V. (1979a):Effect of intraventricular injection of dopamine,norepinephrine,acetylcholine, and 5-hydroxytryptamine on immunoreactive somatostatin release into rat hyphyseal portal blood. Endocrinology,104,1656-1662

Chihara K.,Arimura A.,Shally A.V. (1979b): Immunoreactive somatostatin in rat hypohyseal portal blood:effects of anaesthetics. Endocrinology,104,1434-1441

Chihara K.,Kaiji H.,Minamitani N.,Kodama H.,Kita T.,Goto B., Chiba T.,Fujita T.,Coy D.H. (1984): Stimulation of growth hormone release by vasoactive intestinal polypeptide in acromegaly. J. Clin. Endocrinol. Metab.,58,81

Chihara K.,Kashio Y.,Kita T.,Okimura Y.,Kaji H.,Abe H.,Fujita T. (1986): L-Dopa stimulates release of growth hormone-releasing hormone in Humans. J. Clin. Endocrinol. Metab.62,466-473

Collin J.P. (1971): Differentiation and regression of the cells of the sensory line in the epiphysis cerebri.In: The Pineal Gland,edited by G.E.W. Wolstenholme and J. Knight, Churchill Livingstone, London 79-120

Collin J.P.,Oksche A. (1971): structural and functional relationship in the mammalian pineal organs.In: The Pineal Gland,Vol.I-Anatomy and Biochemistry,edited by R.J. Reiter, CRC Press,Boca Raton

Collu R.,Fraschini F.,Visconti P.,Martini L. (1972): adrenergic and serotoninergic control of GH-secretion in adult male rats. Endocrinology,90,1231-1237

De Fronzo R.A.,Roth W.D. (1972): evidence for the existence of a pineal-adrenal and a pineal-thyreoid axis. Acta Endocrinol. (Kbh.),70,35-42

Deguchi T. (1977): Tryptophan hydroxylase in pineal gland of rat: postsynaptic localisation and absence of circadian change. J. Neurochem.,28,667-668

Deguchi T. (1978): Ontogenesis of circadian rhythm of melatonin synthesis inpineal gland of rat. J. Neural Trans. (Suppl.), 13,115-128

Delitala G. (1982): Neurotransmitter control of anterior pituitary hormone secretion and its clinical implications in man.In: Clinical Neuroendocrinology,Vol.2,edited by G.M. Besser and L. Martini,68-138,Academic Press, N.Y.

Delitala G.,Wass J.A.H.,Subbs W.A.,Jones A.,Williams S., Besser G.M. (1979):The effect of lisuridehydrogen meleate, an ergot derivate on anterior pituitary hormone secretion in man. Clin. Endocrinol. (Oxf.),11,1-9

Demian D., Jonas O. Badescu J.,Oprescu M. (1978): Anti LH and FSH activity of melatonin free pineal extracts. Neuro-endocrinology,26,325-332

Dickson K.L.,Hasty D.L. (1972): effects of the pineal gland in unilaterally adrenalectomized rats. Acta Endocrinol. (Kbh), 70,438-444

Donnadieu M.,Evain-Brion D.,Tonon M.C.,Vaudry H.,Job J.C. (1985): Variations of plasma growth hormone (GH)-releasing factor levels during GH stimulation Test in Children. J. Clin. Endocr. Metab.,60,1132-1134

Durand D.,Martin J.B.,Brazeau P. (1977): Evidence for a role of α-adrenergic mechanism in regulation of episodic growth hormone secretion in the rat. Endocrinology,100,722-728

Eden S.,Bolle P.,Modigh K. (1979): Monoaminergic control of episodic growth hormone secretion in the rat:effects of reserpine,methyl-p-tyrosine,p-chlorphenylalanin and haloperidol.Endocrinology,105,523-529

Elliott J. (1976): circadian rhythms and photoperiodic time measurements in mammals. Federation Proceedings,35,2339-2346

Faigon M.R.,Cardinali D.P.,Moguilewsky J.A. (1982):Pinealectomy advances the time of development of steroid feed-back on luteinizing hormone release in immature female rats. Brain Res.,241,366 - 379

Falck B.,Hillarp N.A.,Thieme G.,Torp A. (1962): Fluorescence of catecholamines and related compounds with formaldehyde. J.Histochem. Cytochem., 10,348-354

Feldman J.M.,Lebowitz H.E. (1972): In: Abstracts of the 4th International Congress of Endocrinology,Washington D.C., 35, ICS 256,Excerpta Medica, Amsterdam

Fèvre M., Segel T.,Marks J.F.,Boyar R.M. (1978): LH and melatonin secretion patterns in pubertal boys. J. Clin. Endocr.,47,1383-1386

Fraschini F.,Mess B.,Martini L (1968): pineal gland and the control of luteinizing hormone secretion. Endocrinology,82,919-924

Fraschini F.,Collu R.,Martini L. (1971): Mechanism of inhibitory action of pineal principles on gonadotrophin secretion, in:G.E.W. Wolstenholme and J. Knight (Eds.) The Pineal Gland, Churchill Livingstone,London, 259

Giammanco S.,Tessitore V.,La Grutta V.,Di Bernardo C. (1968): Ricerche sulle modificazioni del sistema neuroendocrino nel ratto sottoposto ad asportazione dei bulbi olfattori in epoca puberale. Biol. Lat.,21,121-142

Gilmore T.A.,Kennaway D.J. (1984): Effects of melatonin implants in the ewe lambs. J. Reprod. Fertil.,70,39

Glowinski J.,Iversen L.L. (1966): regional studies of catecholamines in the rat brain.I-the disposition of ^{3}H-Norepinephrine, ^{3}H-Dopamine and ^{3}H-Dopa in various regions of the brain. J. Neurochem.,13,655-669

Goldman B.D. (1983): The physiology of melatonin in mammals. Pineal Res. Rev.,1,145

Gordon A.E.,Meldrum B.S. (1970): effect of insuline on brain 5-hydroxytryptamin and 5-hydroxy-indole-acetic acid of rat. Biochem. Pharmacol.,19,3042-3044

Greenwood F.C.,Hunter W.M. (1963): the preparation of ^{131}J-labelled human growth hormone of high specific radioactivity. Biochem. J.,89,114-123

Guillemin R.,Brazeau P.,Böhlen P.,Esch F.,Ling N.,Wehrenberg W.B. (1982): Growth hormone releasing factor in man from a human pancreatic tumor that caused acromegaly. Science,218, 585-587

Gupta D. (1986): Human development and the pineal gland.In: The Pineal Gland During Development. Croom Helm,London,D. Gupta and R.J. Reiter editors,117-133

Gupta D., Riedl L.,Frick H.J.,Attanasio A.,Ranke M.B. (1983): circulating melatonin in children: in relation to puberty,endocrine disorders,functional tests and racial origin. Neuroendocrinol. Letters,5, 63-77

Hester R.J. (1966): Growth inhibition of endocrine organs in blinded albino rats and the effect of pinealectomy.Abstract of the 79 th session of the American Ass. of Anatomists. Anat. Res.,154,357-358

Heubner O. (1898): Tumor der glandula pinealis. Deutsch. Med. Wochenzeitschrift,24 (2),214-215

Hoffken B.,Lucke C. (1975): effect of somatostatin on pituitary hormone secretion.Acta Endocrinol. (Kbh.),78, Suppl.193: A 70

Hoffman K. (1981): The role of the pineal gland in the photoperiodic control of seasonal cycles in hamsters,in: B.K. Follett and D.E. Follett (Eds.),Biological Clocks in Seasonal Reproductive Cycles.Wright,Bristol,237

Hofstätter R. (1950): Beitrag zur therapeutischen Verwendung von Zirbelextrakten.Wien. Klin. Wschr.,82,338-339

Hooper R.J.L.,Silman R.E.,Leone R.M.,Finnie M.D.A.,Carter S.,Grudszinkas J.G.,Gordon Y.B.,Holland D.,Chard T.,Mullen P.E.,Smith I. (1979): Changes in the concentration of circulating 5-methoxytryptophol at different stages of the menstrual cycle. J. Endocr.78,26-28

Illnerova H.,Backstrom M.,Saaf J.,Wetterberg L.,Vanglo B. (1978): Melatonin in rat pineal and serum: rapid parallel decline after light exposure at night. Neurosci. Lett.,9,189-193

Jouan P. (1963): Epiphyse,5-Methoxytryptamin et Corticoidogenèse in vitro. Ann. Endocr. (Paris),24,365-370

Kakucska I.,Mahara G.B. (1983): Various putative neurotransmitters effect growth hormone release in rats with anterior-lateral hypothalamic deafferentiation of the medial basal hypothalamus:; evidence for mediation by a GH-releasing factor. Endocrinology,113, 318-323

Kansal P.C.,Talbert O.R.,Buse M.G. (1971): Effect of L-Dopa on serum thyroxine and growth hormone.Fifty third meeting endocr. soc.,San Francisco,A-211

Kappers J.A. (1976): The mammalian pineal gland,a survey. Acta neurochir. (Wien),34,109-149

Kato Y.,Dupré J.,Beck (1973): Plasma GH in the anesthesized rat: effect of dibutryl-cAMP,Prostaglandin E,adrenergic agents,Vasopressin,Chlorpromazin,Amphetamin and L-Dopa. Endocrinology,93,135-146

Kawakami M.,Arita J.,Yoshioka E. (1980): Loss of estrogen-induced daily surge of prolactin and gonadotropins by suprachiaamatic nucleus lesions in ovariectomized rats. Endocrinology,106,1087-1090

Kinson G.A.Liu C.C. (1973): Testicular response to melatonin and serotonin implanted peripherally in immature rats.Life Sci.,12,173-184

Kitay J.,Altschule M.D. (1954): The Pineal Gland- a review of the physiological literature.Harward University Press,Cambridge,MA

Klein D.C.,Weller J.L. (1970): Indole Metabolism in the pineal gland: a circadian rhythm in N-Acetyltransferase. Science,169,1093-1095

Klein D.C.,Reiter R.J.,Weller J.L. (1971): pineal N-Acetyltransferase activity in blinded and anosmic rats. Endocrinology,89,1020-1023

Kokka N.,George R. (1974): Effects of narcotic analgesic,anaesthetic and hypothalamic lesions on growth hormone and adrenocorticotropic hormone secretion in rats.In:Narcotics and the Hypothalamus,edited by E. Zimmermann and R. George,137-157,Raven Press,N.Y.

Korf H.W.,Møller M. (1985): The central innervation of the mammalian pineal orgen.in:B. Mess,C. Ruszas,L.Tima and P.Pévet (Eds) The Pineal Gland.Current Status of Research. Elsevier,Amsterdam,and Akademia Kiado,Budapest,47

Koulu M.,Lammintausta R. (1979): effect of melatonin on GH secretion. J. Clin. Endocr. Metab.,49,70-72

Krulich L. (1974): Hypothalamic regulation of the secretion of growth hormone. Acta Endocr. (Kbh.) Suppl. 184,179-180

Kurasek M. (1983): Ultrastructure of the mammalian pineal gland:its comparative and functional aspects.in:R.J. Reiter (Ed)Pineal Research Reviews,Vol. 1,Alan R. Liss,N.Y.,2

Lal S.,De La Vega C.E.,Sourkes T.L.,Friesen H.G. (1973): effect of apomorphine on growth hormone,prolactin,luteinizing hormone and follicle stimulating hormone levels in human serum. J. Clin. Endocr. Metab.,37,719-724

Lal S.,Martin J.B.,De La Vega C.E.,Friesen H.G. (1975): Comparison of the effect of apomorphine and L-Dopa on serum growth hormone levels in man. Clin. Endocrinol.,4,277-285

Lancranjan I.,del Pozo E.,Ohnhans E (1978): Inhibitory effect of guanfacine,a central γ-adrenoreceptor agonist on prolactin secretion stimulated by insulin-induced hypoglycemia. J. Clin. Endocrinol. Metab.,47,671-674

Land C.A.,Smith J. (1979): the binding of methoindoles to human and rat plasma protein. Endocrinology,91,1213-1218

Lang U.,Aubert M.L.,Conne B.S.,Bradtke J.C.,Sizonenko P.C. (1983): Influence of exogenous melatonin on melatonin secretion and the neuroendocrine reproductive axis of intact male rats during sexual maturation. Endocrinology,112,1578

Lang U.,Aubert M.L.,Rivest R.W.,Vinas-Bradtke J.C. Sizonenko P.C. (1984A): daily afternoon administration of melatonin does not irreversibly inhibit sexual maturation in the male rat. Endocrinology,115,2303

Lang U.,Rivest R.W.,Schlaepfer L.V.,Bradtke J.C.,Aubert M.L. Sizonenko P.C. (1984 b): diurnal rhythm of melatonin action in sexual maturation of male rats. Neuroendocrinology,38,261

Legait H.,Hartmann P.,Lumin B. (1978): pineal gland-liver relations in man and mouse. J. Neur. Trans. Suppl., 13,374-375

Lerner A.B.,Case J.D.,Heinzelman R.V. (1959): structure of melatonin. J. Amer. Chem. Soc.,81,6084-6085

Lovinger R.D.,Gonnors M.H.,Kaplan S.L. Ganong W.F.,Grumbach M.M. (1974): Effect of L-Dihydroxyphenylalanine (L-Dopa), anesthesia and surgical stress on the secretion of growth hormone in the dog. Endocrinology,95,1317-1321

Lovinger R.D.,Holland J.,Kaplan S., Grumbach M.M.,Borycza A.T., Shackelford R.,Salmon J.,Reid I.A.,Ganong W.F. (1976): pharmacological evidence for stimulation of growth hormone secretion by a central noradrenergic system in dogs. Neuroscience,1,443-450

Luce-Clausen E.H.,Brown E.F. (1939): the use of isolated radiation in experiments with the rat. III effects of darkness,visible and infrared radiation of three succeeding generations of rats; (b) reproduction. J. Nutr.,18,551-562

Malm O.J.,Lingjoerde P. Skauug O.E. (1959): The effect of pinealectomy on boddly growth,survival rate and p^{32}-uptake in the rat. Acta Endocrinol (Kbh.),30,22-29

Marburg O. (1930): Die Physiologie der Zirbeldrüse. aus: Handbuch der normalen und pathologischen Physiologie. Bd. 13,493-590

Martin J.B. (1972): Plasma GH response to hypothalamic or extra hypothalamic electrical stimulation. Endocrinology,91, 107-115

Martin J.B. (1973): Neural regulation of growth hormone secretion. N. Engl. J. Med.,288,1384-1393

Martin J.B. (1974): the role of hypothalamic and extra hypothalamic structures in the control of GH-secretion. in: S. Raits (ed)-Advance in Human Growth Research, 223-255

Martin J.B. (1979): Pathophysiology of growth hormone regulation. Tolis G.,Labire F.,Martin J.B.,Naftolin F.,eds., Clinical Neuroendocrinology: a pathophysiologic approach. New York: Raven Press, 437-44è

Martin J.B. (1980): functions of central nervous system neurotransmitters in regulation of growth hormone secretion. Federation Proc.,39,2902-2906

Martin J.B., Sattler C. (1979): Developmental loss of the acute inhibitory effect of melatonin on the in " vitro " pituitary luteinizing hormone-releasing hormone. Endocrinology,105,1007

Martin J.B.,Renaud L.P.,Brazeau P (1974): pulsatile growth hormone secretion:suppression by hypothalamic ventromedial lesions and by long-acting somatostatin. Science,186,538-640

Martin J.B.,Brazeau P.,Tannenbaum G.S.,Willoughby J.O., Epelbaum J.,Terry L.C.,Durand D. (1978): Neuroendocrine organisation of growth hormone regulation. In: Reichlin S.,Baldessarini R.J.,Martin J.B. (eds)The Hypothalamus. Raven Press,N.Y.,329

Mc Cann S.M.,Fawcett C.P.,Krulich I. (1974): in: endocrine physiology-S. 31 - editor: S.M. Mc Cann,Butterworths and University Park Press,London and Baltimore

Mess,B.,Trentini G.P. (1974): ^{3}H-Melatonin levels in cerebrospinal fluid and chorioid plexus following intravenous administration of the labelled compound. Acta Physiol. Acad. Sci. hung.,45,225-231

Mess B.,Heizer A.,Toth A.,Tima L.,(1971): Luteinization induced by pinealectomy in the polyfollicular ovaries of rats bearing anterior hypothalamic lesions.in: G.E.W. Wolstenholme and J. Knight (Eds),The Pineal Gland (A Ciba Foundation Symposium).Churchill Livingstone, Edinburgh,229-240

Miki N.,Ono M.,Shizume K. (1984): Evidence that opiatergic and α-adrenergic mechanisms stimulate rat growth hormone release via growth hormone releasing factor (GRF). Endocrinology,114,1950

Moore R.Y. (1974): visual pathways and the central neural regulation of diurnal rhythms.in: F.O. Schmitt and G.F. Worden (eds.).The Neurosciences- Third Study Programm;MIT Press,Cambridge,MA,537-542

Moore R.Y. (1978): Central neural controlof circadian rhythms.in: Frontiers in neuroendocrinology,Vol. 5 edt. by W.G. Ganong and L/ Martini,Raven Press,N.Y. 185-206

Moore R.Y. (1979): the anatomy of central neural mechanisms regulating endocrine rhythms.in: Comprehensive Endocrinology,edt. by D.T. Krieger,Raven Press, N.Y.,63-87

Moore R.Y.,Eichler V.B. (1972): Loss of a circadian adrenal corticosterone rhythmus following suprachiasmatic lesions in the rat. Brain Res.,42,201-206

Moore R.Y.,Klein D.C. (1974): Visual Pathways and the central neural control of a circadian rhythm in pineal serotonin NAT activity. Brain Res.,71,17-33

Moore R.Y.,Traynor M.E. (1976): diurnal rhythms in pineal N-Acetyltransferase and hippocampal norepinephrine: effects of water deprivation,blinding and hypothalamic lesions. Neuroendocrinology,20,250-259

Müller E.E. (1973): Nervous control of GH secretion. Neuroendocrinology,11,338-369

Müller E.E.,Nistico G.,Scapagni U. (eds) (1977): neurotransmitter and anterior pituitary function. New York Academic Press,1-435

Negro-Vilar A.,Ojeda S.R.,Arimura A.,Mc Cann S.M. (1978): Dopamine and norepinephrine stimulate somatostatin release by median eminence fragments in vitro. Life Sci.,23,1493-1498

Ng K.Y.,Chase T.N.,Colburn R.W.,Kopin I.J. (1970):L-Dopa induced release of cerebral monoamines.Science,170,76

Norlund J.J.,Lerner A.A (1977): the efects of oral melatonin on skin colour and on the release of pituitary hormones. J. Clin. Endocr. Metab.,45,768-774

Ojeda S.R.,Andrews W.W.,Advis J.P.,White S.S (1980): Recent advances in the endocrinology of puberty. Endocr. Rev.,1,228-325

Oksche A. (1971): Sensory and glandular elements of the pineal organ.In: The Pineal Gland,edited by G.E.W. Wolstenholme and J. Knight,Churchill Livingstone,127-146

Oleshansky M.A.,Neff N.H. (1978): Studies on the control of pineal indole synthesis: cyclic nucleotides, adenylate cyclase and phosphodiesterase. J. Neural Trans. (Suppl. 13) 81-95

Pang S.F.,Tang F.,Tang P.L. (1984): Negative correlation of age and the levels of pineal melatonin,pineal N-Acetylserotonin and serum melatonin in male rats. J. Exp. Zool.,229,41

Pardey-Borrero B.M.,Tamasy V.,Timiras P.S. (1985): Circadian pattern of multiunit activity of the rat suprachiasmatic nucleus during the estrous cycle. Neuroendocrinology,40, 450-454

Parker D.C.,Rossamnn L.G.,Siler T.M.,Rivier J.,Yen S.S.C., Guillemin R. (1974): Inhibition of the sleep related peak in the physiologic human growth hormone release by somatostatin. J. Clin. Endocrinol. Metab.,38,496-499

Pecile A.,Müller E.E.,Netti C. (1972): nervous system participation in growth hormone release from anterior pituitary gland.in: Growth and growth hormone.Excerpta Medica Int. Congr. Ser. No 244,261-270

Pévet P. (1981a): Ultrastructures of the mammalian pinealocytes.in: R.J. Reiter (Ed) The Pineal,Anatomy and Biochemistry,C.R.C.,Boca Raton

Pévet P. (1981b): Peptides in the pineal gland of vertebrates.Ultrastructural,histochemical,immunocytochemical and radioimmunological aspects.in: Oksche and Pévet (Eds) The Pineal Organ:Photobiology-Biochronometry-Endocrinology,Elsevier/North Holland,Amsterdam

Pévet (1982): Pineal peptides in the fetus and in young and adult mammals.in: D.C. Klein (Ed)Melatonin Rhythm generating System,Karger,Basel

Pévet (1983): The different classes of proteic and peptidergic substances present in the pineal gland. in: J. Axelrod,F. Fraschini and G.P. Velo (Eds) The Pineal Gland And its endocrine Role.Plenum ,New York and London

Pévet P. (1985a): Methoxyindoles,pineal and seasonal reproduction.A new approach.in: B. Mess,C. Ruszas,L. Tima and P. Pévet (eds) The Pineal Gland: Current State of Pineal Research:Elsevier,Amsterdam and Akademiai Kiado,Budapest

Pévet P. (1985b): 5-Methoxyindoles,pineal peptides and reproduction.in: G.M. and S.D. Wainwright (Eds) The Pineal Gland 1984,Pergamon,London

Pévet P. (1985c): The different classes of pineal peptides: Origin and probable physiological role during development. in:The Pineal Gland During Development (D. Gupta and R.J. Reiter Eds),Croom Helm,London,234-247

Prechel M.M.,Audhya T.K.,Simmons W.H. (1983): Pineal Arginine Vasotocin immunoreactivity in rat pineal glands. Endocrinology,122,1474-1478

Prechel,M.M.,Audhya T.K.,Simmons W.H. (1984): Pineal Arginin Vasotocin increases 200 fold during August in adult rats and hamsters. J. Pineal Res.,1,175-182

Quay W.B. (1963): Circadian rhythms in rat pineal serotonin and its modofication by estrous cycle and photoperiod. Gen. Comp. Endocrinol.3,473-479

Quay W.B. (1974): Pineal Activity in cellular and physiological mechanism. Charles C. Thomas,Springfield,Illinois

Raisman G.,Brown-Grant K. (1977): The " suprachiasmatic syndrome " endocrine and behavioral abnormalities following lesions of the suprachiasmatic nuclei in the female rat. Proc. R. Soc. Lond. B,198,297-302

Ralph C.L. (1981): Melatonin: Current Status and Perspectives.Edited by Birau N.,Schloot W.,Pergamon Press, N.Y.,35-46

Rando T.A.,Bowers C.W.,Zigmond R.E. (1981): Localisation of neurons in the rat spinal cord which project to the superior cervical ganglion. J. Comp. Neurol.,196,73-83

Richardson S.B.,Hollander C.S.,Prasad J.A.,Hirooka Y. (1981): So matostatin release from rat Hypothalamus in vitro:effects of melatonin and serotonin. Endocrinology,109,602-606

Reiter R.J. (1980a): The Pineal Gland: a regulator of regulators. Progr. psychol. physiol. Psychology,9,323-356

Reiter R.J. (1980b):The Pineal and its hormones in the control of reproduction in mammals. Endocr. Rev.,1,109-131

Reiter R.J. (1981a): Pineal,retinal and Harderian gland melatonin in a diurnal species,the Richardson`s ground squirrel (Spermophilus richardsonii). Neurosci. Lett.,22, 285-288

Reiter R.J. (1981b): The Pineal Gland,Vol.2,Reproductive Effects,CRC,Boca Raton

Reiter R.J. (1982): Neuroendocrine Effects of the Pineal Gland and of Melatonin. Frontiers in Neuroendocrinology,Vol.7,edited by W.F. Ganong and L. Martini,Raven Press,N.Y.,287-316

Reiter R.J.,Hester R.J. (1966a): Neuroendocrinological Interrelationships.in: Metabolic Regulation of Physiological Activity (B. Sacktor,R.J. Reiter,J. Wilson H.J. Smith,C.G. Tiekert,R.J. Reiter eds),Research Laboratories US Army,Edgewood Arsenal,Md,13-18

Reiter R.J.,Hester R.J. (1966b): Interelationships of the pineal gland,the superior cervical ganglia and the photoperiod in the regulation of the endocrine systems of hamsters. Endocrinology,79,1168-1170

Reiter R.J.,Hoffmann R.A.,Hester R.J. (1965): Inhibition of J^{131} uptake by thyreoid glands of male rats treated with melatonin and pineal extracts. Am. Zool.,5, 727-728

Reiter R.J.,Vaughan M.K.,Vaughan G.M.,Sorrentino S. jr., Donofrio R.J. (1975): The pineal gland as an organ of internal secretion. in: " Frontiers of pineal physiology " M.D. Altschule ed,MIT,Cambridge,54-174

Reiter R.J.,Vaughan M.K.,Vaughan G.M. (1977): pineal antigonadotropic substances: polypeptides and indoles. Life Sci.,21,159-172

Relkin R.J. (1972): effects pf pinealectomy and constant light and darkness on thyreotropin levels in the pituitary and plasma of the rat. J. Endocrinol. 53,289-293

Relkin R.J. (1978): Use of melatonin and synthetic TRH to determine site of pineal inhibition of TSH secretion. Neuroendocrinology,25,310-318

Riedl L. (1983): Pathologische Aspekte von Melatonin im Kindesalter. Med. Dissertation,Universität Tübingen

Rivest R.W.,Lang U.,Aubert M.L.,Sizonenko P.C. (1985): daily administration of melatonin delays rat vaginal opening and disrupts the first estrous cycle: evidence that these effects are synchronozed by the onset of light. Endocrinology,116,779

Rollag M.D.,Niswender G.D. (1976): Radioimmunoassay of serum-concentrations of melatonin in sheep exposed to different light regimens. Endocrinology,98,482-489

Rollag M.D.,Morgan R.J.,Niswender G.D. (1978): Route of melatonin secretion in sheep. Endocrinology,102,1-8

Rollag M.D.,Panke E.S.,Reiter R.J. (1980): Pineal melatonin content in male hamsters throughout the seasonal reproductive cycle. Proc. Exp. Biol. Med. 165,330-334

Rosenthal S.M.,Schriock E.A.,Kaplan S.L.,Guillemin R., Grumbach M.M. (1983): synthetic human pancreatic growth hormone releasing factor (hp GRF (1-44)-NH_2 stimulates growth hormone (GH) secretion in normal men. Endocrinology,112,A12

Roth J.,Yalow R.S.,Berson S.A. (1963): Hypoglycemia: a potent stimulus to secretion of GH. Science,140,987-988

Ruch W.,Mixer R.C.,Russel R.M.,Garcia J.F.,Gale C.C. (1977): Aminergic and thermoregulatory mechanisms in hypothalamic regulation of growth hormone in cats. Am. J. Physiol.,233,E 61-E 69

Ruszas C.,De Gaetani C.,Criscuolo M.,Mess B.,Trentini G.P. (1981): Possible role of the midbrain serotoninergic raphe nuclei in the regulation of ovulation exerted by melatonin in the rat. Neuroendocrinol. Letters,3, 331

Ruszas C.,De Gaetani C.,Criscuolo M.,Trentini G.P. (1982): effect of selective 5,7-dihydroxytryptamine lesions of the brain serotoninergic neuron system on the ovulation-maintaining effect of Melatonin in rats exposed to continuous light. Neuroendocrinol. Letters,4, 313

Saavedra J.M.,Brownstein M.,Axelrod J. (1973): A specific and sensitive enzymatic isotopic microassay for

serotonin in tissues. J. Pharmacol. Exp. Ther.,186, 508-515

Samson W.K.,Mc Cann S.M. (1979): Effects of suprachiasmatic nucleus lesions on hypothalamic LH-releasing hormone (LHRH) content and gonadotropin secretion in the ovariectomized (OVX) female rat. Brain Res. Bull.,4, 783-787

Shibasaki T.,Hotta M.,Masuda A.,Imaki T.,Obara N.,Demura H., Shizume K.,Ling N. (1985): Plasma responses to GHRH and insulin-induced hypoglycemia in man. J. Clin. Endocr. Metab.,60,1265-1267

Silman R.E.,Hooper R.J.L.,Leone R.M.,Edwards J.G.,Grudzinskas J.G.,Gordon Y.B.,Chard T.,Savage M.,Smith I.,Müllen P.E. (1979): 5-Methoxytryptophol and pituitary function in man. Progr. Brain Res.,52,507-511

Smythe G.,Lazarus L. (1973): GH regulation by melatonin and serotonin. Nature,244,230-231

Smythe G.A.,Lazarus L. (1974a): Suppression of human growth hormone secretion by melatonin and cyproheptadine. J. Clin. Invest.,54,116-121

Smythe G.A.,Lazarus L. (1974b): GH responses to melatonin in man. Science,184,1373-1374

Smythe G.A.,Brandstater J.F.,Lazarus L. (1975): serotonergic control of rat growth hormone secretion. Neuroendocrinology,17,245-257

Snyder S.H.,Axelrod J.,Fischer J.E. (1964): Neural and photic regulation of 5-Hydroxytryptophan-decarboxylase in the rat pineal gland. Nature (London),203, 981-982

Sorrentino S. jr.,Reiter R.J.,Schalch D.S. (1971): pineal regulation of growth hormone synthesis and release in blinded-anosmic male rats; Neuroendocrinology,7,210-218

Starr K.W. (1970): Growth and new growth: environmental carcinogens in the process of human oncogeny.In:Progress in Clinical Cancer. I.M. Ariel ed,Grune & Sratton Inc. N.Y.,4,1-29

Stephan F.K., Berkley K.J.,Moss R.L. (1982): efferent connections of the rat suprachiasmatic nucleus. Neuroscience,6, 2625-2641

Swanson L.W.,Sawchenko P.E. (1983): Hypothalamic Integration : Organization of the paraventricular and supraoptic nuclei. Annu. Rev. Neurosci.,6,269-324

Szabo M.,Frohmann L.A (1975): effects of porcine stalk median eminence and prostaglandine E_2 on rat growth hormone secretion in vivo and their inhibition by somatostatin. Endocrinology,96,955-961

Tamarkin L.,Brown S.,Goldman B. (1975): Neuroendocrine regulation of seasonal reproductive cycles in the hamster. Abstracts of the 5 th Annual Meeting of the Society of Neurosciences,N.Y.,458

Tamarkin L.,Reppert S.M.,Orloff D.J.,Klein D.C.,Yellon S.M., Goldman B.D. (1980): ontogeny of the pineal melatonin rhythm in the syrian and siberian hamsters and in the rat. Endocrinology,107,1061-1064

Tannery Ch.,Tannery P. (1909):Oevres,Vol. XI,Paris

Thorner M.O.,Wass J.A.H.,Ryan W.,Jones A.,Bouloux P.,Williams S.,Besser G.M. (1978): effect of the dopamin agonist lergotrile mesylate on circulating anterior pituitary hormones in man. J. Clin. Endocrinol. Metab.,47,372-378

Trentini G.P.,Botticelli A.R.,Sannicola Botticelli C.,Barbanti Silva C. (1976): Decreased Ovarian LH incorporation after melatonin treatment. Horm. Metab. Res.,8,234-236

Trentini G.P.,Mess B.,De Gaetani C.F.,Ruszas C. (1979): Pineal-Brain relationship. Proc. of the 1st Colloquium of the European Pineal Study Group (EPSG) held at the Royal Netherlands Academy of Art and Sciences,Amsterdam,in: Progress in Brain Res.,52

Trentini G.P.,Ruszas C.,Criscuolo M., Zarcone N.A. (1986): The role of serotoninergic and non-serotoninergic mechanisms as modulators of the pineal influence on reproduction. In: The Pineal Gland During Development. D. Gupta and R.J. Reiter eds.,Croom Helm,London,195-208

Vale W.,Brazeau P. Rivier C.,Rivier J.,Grant G.,Burgus R., Ling N.,Guillemin R. (1975): Somatostatin,Recent Progress Horm. Res.,31,365-392

Vale W.,Brazeau P.,Rivier C.,Grant G.,Burgus R.,Guillemin R. (1973): Biological activities of somatostatin. Endocrinology,82,A118

Vanderschueren-Lodeweyckx M. (1981): Endocrinology of growth. in: Clinical Paediatric Endocrinology,edited by Charles G.D. Brook,Blackwell Scientific Publications, 73-95

Vaughan M.K. (1984): Pineal Peptides: an overwiew.in: R.J. Reiter (Ed) The Pineal Gland,Raven Press N.Y.,39

Vaughan M.K.,Reiter R.J.,Benson B. (1972): effect of melatonin and other pineal indoles on adrenal enlargement produced in male and female mice by pinealectomy,unilateral adrenalectomy,castration and cold stress. Neuroendocrinology,10,139-154

Waldhauser F.,Frisch H.,Waldhauser M.,Weissenbacher,Zeitlhuber U.,Wurtman R.J. (1984): Fall in nocturnal serum melatonin during prepuberty and pubescence. Lancet,1984 I, 362-365

Walker R.F. (1982): Melatonin: serotonin interaction during termination of the LH surge in rats.in: R.J.Reiter (Ed) The Pineal and its Hormones.Alan R. Liss, N.Y.,167

Walker R.F. (1983): Quantitative and temporal aspects of serotonin's facilitatory action on phasic secretion of LH in female rats. Neuroendocrinology,36,468-471

Wakabayashi I.,Miyazawa Y.,Kanda M.,Miki N.,Demura R., Shizume K. (1977): Stimulation of immunoreactive somatostatin release from hypothalamic synaptosomes by high (K^+) and dopamine. Endocrinol. Jpn. 24,601-604

Wehrenberg W.B.,Ling N.,Brazeau P.,Esch F.,Böhlen P.,Baird A.,Ying S.,Guillemin R. (1982):Somatocrinin,growth hormone releasing factor,stimulates secretion of growth hormone in anesthesized rats. Biochem. Biophys. Res. Comm., 109, 382-387

Weiner R., Ganong W.F. (1978): Role of brain monoamines and histamine in regulation of anterior pituitary secretion. Physiol. Rev.,58,905-976

Wetterberg L.,Erikson O.,Friberg Y.,Vaugbo B. (1977): A simplified radioimmunoassay for melatonin and its application to biological fluids. Preliminary observations on the half-life of plasma melatonin in man. Clinica Chimica Acta,86,169-177

Woolf P.D.,Lantigua R.,Lee L.A. (1979): Dopamine inhibition of stimulated growth hormone secretion:evidence for dopaminergic modulation of insulin and L-Dopa induced growth hormone secretion in man. J. Clin. Endocrinol. Metab.,49,326-330

Wurtman R.J. (1967): effect of light and visual stimulation on endocrine function.In: Neuroendocrinology,12,319

Wurtman R.J.,Shein H.M.,Larin F. (1971): Mediation by β adrenergic receptors of effect of norepinephrine on pineal synthesis of (^{14}C) Serotonin and (^{14}C) Melatonin. J. Neurochem., 18,1683-1687

Yamashita K.,Mieno M.,Shimizu T.,Yamashita Er (1977): Inhibition by melatonin of the pituitary response to luteinizing hormone releasing hormone in vitro.J. Endocrinol., 76,487-489

Zatz M. (1981): Pharmacology of the rat pineal gland. in: The Pineal Gland,Vol I-Anatomy and Biochemistry,edt. by R.J. Reiter,CRC Press,Boca Raton, 229-242

Zisapel N.,Egozi Y.,Laudon M. (1982): Inhibition of dopamine release by melatonin: regional distribution in the rat brain. Brain Res.,246,161-163

Zucker I.,Johnston P.G.,Frost D. (1980): Comparative physiological and biochronometric analyses of rodent seasonale reproductive cycles.In: Seasonal Reproduction in higher Vertebrates,edt. by R.J. Reiter and B.K. Follett,Karger,Basel,102-132

Für die Ueberlassung des Themas und für seine wertvolle und stets freundliche Hinweise möchte ich mich bei Prof. Derek Gupta bedanken.
Dr. Attanasio danke ich für die Unterstützung bei der Klärung wissenschaftlicher und formeller Sachfragen.
Herzlich möchte ich mich bei Draga und anderen Freunden bedanken, für die Zusammenarbeit und für das Lesen des Manuskriptes.
Mein Dank gilt auch den Laborassistentinnen des endokrinologischen Labors der Kinderklinik für die Hilfe bei den praktischen Laborarbeiten.

Lebenslauf

Am 7. September 1959 wurde ich, Marco Bombelli, als Sohn des Arztes Renato Bombelli und seiner Gattin Mariarosa Bombelli, geborene Lazzati in Legnano (Mailand) geboren.

Dem Besuch der Volksschule in Legnano (Scuole Elementari Edmondo de Amicis) folgten neun Jahre Gymnasium am Kolleg St. Blasien (St. Blasien), wo ich im Frühjahr 1979 die Abiturprüfung ablegte.

Das Medizinstudium begann ich im WS 1979/80 an der Eberhard-Karls-Universität Tübingen.

Die Ärztliche Vorprüfung legte ich im Sommer 1982 ab, die erste Ärztliche Prüfung im Sommer 1983, die zweite im Frühjahr 1985.

Als Famulant besuchte ich die Berufsgenossenschaftliche Unfallklinik Tübingen (Dir. Prof. Weller), die Allg. Chirurg. Abteilung an den Städtischen Kliniken Duisburg (Dir. Prof. Kivelitz), die Innere Abteilung für infektiöse Erkrankungen am Hôpital Haut Leveque, Bordeaux (Dir. Prof. Leng), die Orthop. Abteilung der Rheumaklinik Bad Bramstedt (Dir. Prof. Tillmann) und die chirurgische Praxis von Dr. Bauer in Villingen Schwenningen. Während des praktischen Jahres besuchte ich die Chirurgische und die Medizinische Universitätsklinik Tübingen und die Abteilung für Anästhesiologie der Universitätsklinik Tübingen.

Den Dritten Abschnitt der Ärztlichen Prüfung legte ich an der Universität Tübingen am 28. April 1986 ab.

Druck Köhler Tübingen